

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff.

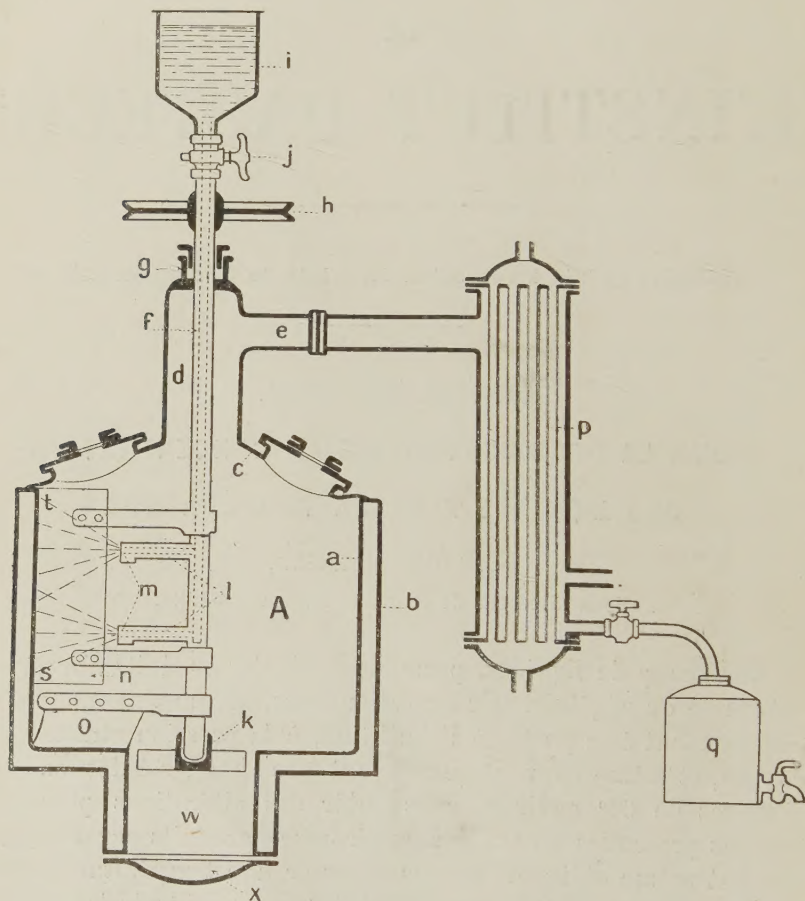
NOUVEL APPAREIL POUR LA DESSICCATION OU LA CONCENTRATION DES LIQUIDES A BASSE TEMPÉRATURE

par LOUIS MARMIER,

Spus-directeur de l'Institut Pasteur de Lille.

Beaucoup de liquides, parmi lesquels des produits d'origine animale ou végétale, tels que albumines, sérums, moûts, etc., ne peuvent être portés à l'ébullition, à la pression atmosphérique, et même souvent ne peuvent être chauffés à des températures de 60° environ, sans subir des altérations plus ou moins profondes. Pour certains sérums et produits organiques, on est même obligé de ne pas dépasser une température comprise, suivant les cas, entre 37 et 50°, sous peine de leur faire perdre leurs propriétés. D'autre part, à leur état normal, ces produits s'altèrent facilement et il est important, soit pour leur étude, soit pour leur conservation avec toutes leurs propriétés, de pouvoir les dessécher ou les concentrer rapidement. C'est pour permettre de faire cette dessiccation ou cette concentration à basse température que nous avons établi, avec le concours de M. Canonne, constructeur à Lille, l'appareil suivant :

Le dessiccateur se compose d'un espace clos *A*, entouré à une petite distance d'une enveloppe *b*. Dans l'intervalle, entre les parois *a* de *A* et *b*, circule de l'eau chaude (ou un autre

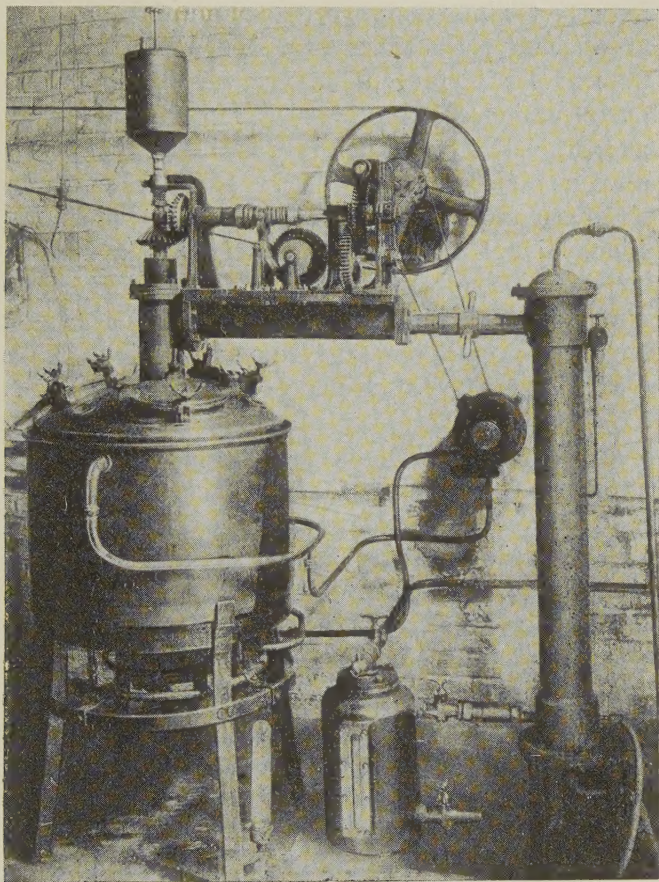


Coupe de l'appareil
pour la dessiccation des liquides à basse température.

fluide convenable) maintenue à une température telle que la limite dangereuse pour les propriétés du produit traité ne soit pas franchie.

La paroi supérieure *c* de l'espace clos *A* porte en son centre un tube d'évacuation en relation avec un condenseur *p*. Celui-ci sera, par exemple, un condenseur tubulaire dont les tubes

seront refroidis intérieurement par circulation d'eau. Les vapeurs dégagées dans le récipient *A* se condensent à l'extérieur des tubes, et le liquide ainsi obtenu s'écoule dans un



Vue de l'ensemble du dessiccateur à basse température
(sauf la pompe à vide).

réservoir *g*. Une pompe à vide fait un vide convenable dans tout l'appareil.

Un arbre creux *f* pénètre dans l'espace clos *A* à travers un presse-étoupe étanche *g* et repose, à la partie inférieure de *A*, sur un pivot *k*. Extérieurement à *A*, l'arbre porte une poulie *h*

ou un pignon denté qui lui communiquera un mouvement de rotation pendant la marche de l'appareil, puis se termine par un réservoir *i* dans lequel on verse le liquide à traiter. Ce réservoir est en communication avec l'intérieur de l'arbre, un robinet *j* permet d'interrompre cette communication.

Un ou plusieurs petits tubes *l*, fixés sur l'arbre et communiquant avec sa partie creuse, sont terminés chacun par un pulvérisateur *m* projetant le liquide et le répartissant en pluie de très fines gouttelettes sur la paroi du récipient *A* qui se trouve en regard. Une raclette *n* est montée sur l'arbre et sera entraînée par lui dans son mouvement de rotation. Elle touche la paroi cylindrique, suivant une génératrice précédant la surface couverte par le jet des pulvérisateurs. A la partie inférieure, se trouve une autre raclette *o*, ayant une inclinaison convenable pour ramener le produit desséché dans un récipient *w*, d'où on l'évacue à la fin de l'opération par le tampon inférieur *x*.

L'appareil fonctionne de la façon suivante :

Le bain-marie étant à une température convenable, on ferme le robinet *j*, et on fait le vide dans l'appareil. On remplit le réservoir *i* du produit à dessécher ou à concentrer et on met l'arbre en rotation. Quand on ouvre *j*, la pression atmosphérique chasse le liquide dans l'arbre creux et dans les pulvérisateurs, qui le projettent en pluie fine sur la paroi chauffée. Là, le liquide est étalé en une couche mince qui s'évapore rapidement. Les pulvérisateurs étant entraînés par le mouvement de rotation de l'arbre, le jet en pluie couvre toute la paroi cylindrique sur une hauteur *st*. Le débit des pulvérisateurs et la vitesse de rotation sont réglés de telle sorte que le produit déposé sur la paroi est parvenu au degré de siccité ou de concentration désiré avant un nouveau passage des pulvérisateurs. De cette façon, la raclette *n* ne détache de la paroi qu'un produit à l'état convenable. Ce produit tombe sur le fond du récipient, d'où la raclette *o* le conduit à l'intérieur du magasin *w*.

Pour de très faibles débits, on est amené à employer des pulvérisateurs ayant un orifice infime, par conséquent susceptible d'être obturé par des petites particules solides pouvant rester en suspension dans le liquide. Cet inconvénient est évité en donnant au pulvérisateur un orifice suffisant pour qu'il n'y ait

plus de risque d'obturation. Il s'ensuit une augmentation de débit, et par suite le produit ne pourrait être amené à l'état désiré pendant une révolution de l'arbre. Pour obtenir quand même, dans ces conditions, le produit à l'état voulu, on dispose sur l'appareil un mécanisme tel qu'après une révolution l'arbre s'arrête, et le jet de liquide à travers les pulvérisateurs cesse un peu avant l'arrêt de l'arbre. Après un certain temps, suffisant pour que le produit déposé sur les parois ait été évaporé au degré cherché, le mécanisme remet l'arbre en mouvement pour une nouvelle révolution et ouvre le conduit des pulvérisateurs.

Que l'appareil soit à mouvement continu ou à mouvement discontinu, en partant d'un liquide donné, on a toujours un produit final identique à lui-même, pour une même température et un même degré de vide du dessiccateur.

Dans un appareil ainsi construit, nous avons concentré de grandes quantités de moûts de raisins frais. Une fois convenablement concentrés, les moûts, sans aucune stérilisation préalable, se conservent inaltérés pendant plusieurs années.

Cet appareil nous a permis également de concentrer des sérums glycerinés et de dessécher des quantités de lait, de sérum, de sang, etc.

Ces concentrations ou dessiccations ont été faites à des températures de 36 à 45° pour le bain-marie, suivant les produits. Il importe de remarquer que, par suite de l'évaporation intense du liquide, le produit traité est à une température beaucoup plus basse, environ 20 à 26°, pendant son séjour sur la paroi.

ÉTUDES SUR LES MÉNINGOCOQUES ET LES SÉRUMS ANTIMÉNINGOCOCCIQUES

par M. NICOLLE, E. DEBAINS et C. JOUAN.

(PREMIER MÉMOIRE)

Nous nous proposons de faire connaître ici une partie de nos recherches, laissant de côté ce qui est définitivement établi par les travaux classiques.

MÉNINGOCOQUES

Nous n'avons rien observé de nouveau, en matière de caractères morphologiques, mais nous ferons quelques remarques quant aux *caractères de culture* des méningocoques, à leur *action sur les sucres*, à leur *isolement* et à leur *conservation*.

CARACTÈRES DE CULTURE

MILIEUX SOLIDES

Nous utilisons la gélose-Martin sérum (formolé) comme milieu d'isolement et la « gélose T » comme milieu habituel.

Préparation de la gélose-Martin sérum (formolé). — On ajoute, à 500 cent. cubes de sérum équin, 1 cent. cube de formol du commerce; on mêle; on verse, après quelques instants, 1 cent. cube d'ammoniaque (22° Baumé) pour neutraliser le formaldéhyde; on étend de 2 parties d'eau *distillée* et on stérilise, pendant 1/4 d'heure, dans l'autoclave (110°). — Quand on ajoute à la gélose Martin 1/3 de sérum formolé, on n'ajoute en réalité que 1/9 de sérum originel, ce qui suffit d'ailleurs amplement.

Préparation de la « gélose T ». — Dans 1 litre d'eau, chauffée vers 80°, on dissout 40 grammes de peptone Chapoteaut, 5 grammes de sel et 2 grammes de glucose. On ajoute 20 grammes de gélose, on alcalinise, on porte à l'autoclave, on filtre, répartit et stérilise. Puis on laisse, pendant quelques jours, sans capuchonner, pour se débarrasser de l'eau de condensation.

Sur gélose T, après 24 heures (37°) : colonies arrondies, humides, légèrement surélevées, de couleur grisâtre. Lorsqu'on triture ces colonies avec le fil de platine, elles prennent, au contact de l'air, un ton saumoné.

Sur gélose-ascite : même aspect, mais développement moins énergique.

Si l'on désire bien connaître l'aspect « macroscopique » des méningocoques, il convient de les examiner sous la masse de plusieurs grammes. C'est ce qui arrive quand on prépare en grand des corps microbiens, pour immuniser les chevaux.

On s'aperçoit, alors, que les divers échantillons présentent des variétés d'abondance et de consistance très marquées. Certains sont semi-liquides, d'autres crémeux, d'autres enfin assez consistants. Ces derniers deviennent rapidement « élastiques », parfois après 24 heures d'étuve. — Les méningocoques, sauf lors de transformation « élastique », s'émulsionnent bien ; mais, à poids égal de germes, les émulsions apparaissent plus ou moins opaques, selon qu'il s'agit de spécimens plus ou moins autolysables. — Mentionnons, encore, l'odeur des cultures, qui rappelle en même temps la corne brûlée et les ammoniaques composées.

MILIEUX LIQUIDES

Nous n'employons que le milieu suivant, préconisé simultanément par Salimbeni et d'Hérelle, pour le pneumocoque, et par l'un de nous (Jouan), pour le méningocoque. Nous l'appellerons « milieu MM » (Martin-méningocoque).

Préparation du milieu MM. — On fait digérer, pendant 7-8 heures (pas davantage), à 50°, des estomacs de porc dégraissés et hachés, comme pour la préparation de la peptone Martin. L'eau est d'abord portée vers 55°; on ajoute, ensuite, par litre, 10 cent. cubes d'HCl pur (22° Baumé) et, en agitant, 300 grammes de hachis d'estomac. On règle la température vers 50°. Après 7-8 heures, on monte jusqu'à 80°-90°, afin de détruire la pepsine et d'arrêter la digestion. La peptone, ainsi obtenue, se conserve, sans précautions, pendant plusieurs semaines; les moisissures, qui s'y développent éventuellement, n'altèrent point ses propriétés.

Pour fabriquer le milieu MM, on rend la peptone légèrement alcaline (tournesol) et on précipite à 120°. On filtre sur papier mouillé, on ajoute 2 grammes de glucose et on stérilise vers 112°-115°.

Les méningocoques que l'on vient d'isoler sur gélose-sérum (formolé) et, *a fortiori*, les germes déjà entraînés sur gélose T, poussent très facilement au sein du milieu MM et y donnent une culture ordinairement riche. Comme ce sont des microbes fort aérobies, ils végètent plus rapidement dans les flacons et en couche mince que dans les tubes et en couche haute; ils y vivent aussi moins longtemps. L'aérophilie se manifeste, dans les flacons, par un anneau adhérent aux parois et, dans les tubes, par un voile, quelquefois hâtif, régulièrement présent après plusieurs jours.

L'abondance habituelle des cultures de 24 heures en milieu MM rappelle celle des cultures typhiques de même âge en bouillon-Martin. Le développement (tubes) se continue pendant 6 jours environ et la vie persiste près de 2 semaines.

ATTAQUE DES SUCRES

Nous avons étudié, à ce point de vue, nombre d'échantillons, utilisant tantôt la gélose-ascite, tantôt le milieu MM (sans glucose). Ce dernier milieu convient tout particulièrement pour deux raisons : il est d'une préparation et d'un maniement très faciles — il est presque incolore, ce qui permet d'apprécier le moindre virage du tournesol.

On ajoute au milieu MM (*flacons*) soit du glucose, soit du maltose, soit du lévulose (1,5 p. 100 de sucre, dans chaque cas) et de la teinture de tournesol très sensible. Il importe de mettre toujours à l'étuve un flacon témoin, tournesolé et nonensemencé.

La presque totalité de nos méningocoques attaquent le *glucose* et, plus énergiquement encore, le *maltose* (quel que soit le « type antigène » de ces germes). 5 échantillons n'attaquent que le glucose (3 A et 2 B — voir plus loin le sens de ces lettres). Un seul n'attaque que le maltose (type A).

La décomposition du *lévulose* n'est jamais appréciable sur gélose-ascite; elle s'observe (grâce au caractère quasi incolore du liquide) en milieu MM, pour les 2/3 des germes étudiés. Mais l'acidification demeure légère et fait rapidement place à une alcalinité croissante, dont l'intensité, très marquée, s'apprécie par comparaison avec le flacon témoin.

ISOLEMENT

[Nous n'envisagerons que le cas des liquides céphalo-rachidiens.]

L'isolement sur gélose-sérum (formolé) doit demeurer la règle ; on étalera abondamment le culot de centrifugation à la surface du milieu.

L'isolement (ou mieux, la culture en masse) dans le liquide MM offre de grands avantages et doit être conseillé comme moyen associé.

Le premier développement *in vitro* des méningocoques exige, on le sait, la présence d'albuminoïdes. Rien de plus facile que de réaliser cette condition, en mêlant 1 partie de liquide céphalo-rachidien (non centrifugé) et 2 parties de milieu MM. Il est préférable, naturellement, de faire le mélange au lit du malade. Nous conseillons, aussi, d'incliner dans l'étuve le tube ensemencé, afin d'obtenir, par une bonne aération, la croissance rapide des germes. Celle-ci s'effectue après 16-18 heures et la culture obtenue permet l'identification directe des microbes et de leur type (par l'agglutination).

Le milieu MM, comparé à la gélose-sérum (formolé), offre un avantage et un inconvénient. *Avantage.* Lorsque les germes sont rares, ils risquent, sur la gélose-sérum, de ne pas fournir de colonies ou d'en fournir très peu, étant donnée leur situation, soit au sein des leucocytes, soit au sein des dépôts fibrineux, laquelle les isole du milieu. Dans le liquide MM, par contre, ils se trouvent rapidement libérés et croissent sans entraves, en présence de matières nutritives abondantes : d'où un pourcentage plus élevé de résultats positifs. *Inconvénient.* Si d'autres microbes coexistent avec les méningocoques, s'il se produit des contaminations fortuites, la culture, mixte, deviendra impropre au diagnostic attendu. — Par conséquent, les deux méthodes d'isolement seront avantageusement associées, comme nous le disions.

CONSERVATION

Nous conseillons le procédé suivant. On prend de gros tubes à essai (diamètre : 2,5 centimètres) et on y verse de la gélose Martin, qui est transformée en gélose-sérum (formolé). Sur le

culot, assez haut (5-6 cm.), on dépose une anse de germes, *sans trop entamer le milieu*. On étale, afin d'obtenir, au centre de la surface libre, un disque d'épaisseur égale et on porte dans l'étuve (37°). Les microbes manifestent leur développement par l'extension du disque, qui gagne la paroi et par sa surélévation progressive. Ils demeurent vivants pendant 2 mois en général; les repiquages mensuels suffisent toujours.

Pour l'envoi des méningocoques, voici ce qu'il convient de faire. On fond un tube de gélatine; on émulsionne abondamment des germes jeunes dans le milieu; on refroidit; on scelle ou on capuchonne.

Considérés au point de vue de leurs « caractères généraux » (morphologie, aspect des cultures, propriétés biologiques), les méningocoques offrent des traits communs, que chacun connaît aujourd'hui et des différences individuelles. Ces différences, légères et sans relation entre elles, ne permettent pas de créer des groupes distincts. Nous allons montrer que les méningococciques, envisagés au point de vue de leurs « caractères antigènes », manifestent, par contre, des dissemblances marquées et concordantes, imposant l'idée de types tranchés.

SÉRUMS ANTIMÉNINGOCOCCIQUES

Lorsque la question des sérums antiméningococciques s'est trouvée assez avancée, on a remarqué que l'effet des sérums, soit *in vitro*, soit *in vivo*, ne s'exerçait pas indifféremment sur tous les échantillons. Le sérum, préparé avec un germe donné, n'en agglutinait que certains autres; il ne guérissait aussi que certaines méningites. D'où la notion de « types antigènes », formulée par Elser et Huntoon, Dopter, Arkwright, Gordon, Ellis.

Nous avons reconnu le bien-fondé de cette notion et nous établirons qu'il existe, actuellement, à notre connaissance, 4 types de méningocoques, aisément reconnaissables au moyen de l'agglutination.

On envisagera, successivement : l'*immunisation des chevaux*, l'*agglutination* des méningocoques et la *réaction de Bordet-*

Gengou, appliquée à l'étude de ces germes et des sérums correspondants.

IMMUNISATION DES CHEVAUX

Nous avons immunisé des chevaux dans le but d'obtenir des sérums jouissant du pouvoir agglutinant et du pouvoir thérapeutique. Le pouvoir thérapeutique ne va pas toujours de pair avec le pouvoir agglutinant et *vice versa*.

On se contentera d'indiquer brièvement les méthodes suivies; elles seront décrites en détail, lorsque nous publierons, avec nos dévoués collaborateurs Frasey et Nicolas, l'histoire complète des animaux immunisés.

Ici, comme ailleurs, nous avons exclusivement employé des « antigènes morts » : le plus souvent, des germes tués par l'alcool-éther; parfois, des extraits microbiens obtenus par le procédé Rowland, au sulfate de soude anhydre (1).

Nous ne saurions trop remercier notre ami Dujardin-Beaumetz, qui nous a fourni *toutes les cultures* utilisées pour préparer les antigènes.

Trois méthodes ont été suivies parallèlement. Voici leurs caractéristiques essentielles :

1. Injections (doses croissantes) sous la peau, puis dans les veines — d'abord tous les 8 jours, ensuite tous les 15 jours. Saignées tous les 8 jours, puis tous les 15 jours.}

2. Injections (doses croissantes) dans les veines; tous les 8 jours, puis tous les 15 jours. Saignées tous les 8 jours, ensuite tous les 15 jours.

3. Injections dans les veines, une fois par mois (4 jours consécutifs — doses croissantes pendant ces 4 jours). Saignées, 11 jours après la dernière des 4 injections. On augmente la dose globale d'un mois au suivant.

Les deux dernières méthodes sont incontestablement les meilleures, quand on veut obtenir rapidement des sérums thérapeutiques très actifs. Elles sont aussi les plus délicates à manier, notamment la seconde.

Au total, nous avons perdu 6 animaux sur 26; résultat fort satisfaisant, si l'on considère qu'il fallait créer de toutes pièces des procédés sûrs et efficaces d'immunisation.

(1) Voir : M. NICOLLE, DEBAINS et LOISEAU. Études sur le bacille de Shiga (Ces *Annales*, août 1916).

La mort des chevaux est due à l'action de la toxine microbienne, comme chez tous les sujets traités par nous avec les antigènes bactériens les plus variés. Mais il convient de distinguer 2 éventualités, selon que cette mort survient en quelques minutes ou en quelques heures (généralement pendant la nuit suivant l'injection ultime). Dans le premier cas, il s'agit d'une hypersensibilité au regard de la toxine, car les chevaux neufs, qui reçoivent la même dose d'antigène, ne succombent *jamais* avant plusieurs heures. Dans le second cas, il s'agit d'une suspension momentanée de l'immunité antitoxique, car les chevaux neufs, qui reçoivent la même dose d'antigène, succombent *exactement* après le même laps de temps. Ce double mécanisme a été mis hors de doute par Debains et Nicolas. Nous avons trouvé que l'on évite toujours les manifestations d'hypersensibilité, en diluant convenablement l'antigène. Il n'existe aucun moyen actuel de prévenir la suspension de l'immunité antitoxique; il faudra donc s'efforcer de la prévoir (en examinant minutieusement les chevaux entre chaque injection) et l'on diminuera alors plus ou moins la dose d'antigène administrée.

Les accidents mortels dépendent de plusieurs facteurs :

Le microbe choisi. En gros, ils sont plus fréquents avec le type A qu'avec le type C et avec le type C qu'avec le type B. Mais il convient de tenir compte, surtout, de la nature propre de chaque échantillon.

L'animal traité. L'individu-cheval offre autant d'importance que l'individu-méningocoque.

La méthode employée. Nous avons dit que la seconde était la plus dangereuse; aucun doute là-dessus. Il faut noter, cependant, qu'un cheval, immunisé par la voie sous-cutanée avec un extrait microbien, a succombé en quelques minutes, lors de réinjection (toujours sous-cutanée) de cet extrait. [Comparer les observations de Behring (toxine tétanique) et de Martin (toxine diphtérique), absolument superposables.]

La forme de l'antigène? Rien de net, jusqu'ici.

ÉTUDE DE L'AGGLUTINATION

A la suite de recherches multipliées, nous avons obtenu 4 sérums agglutinants, qui ont permis de classer tous les méningocoques (sauf de rares spécimens, dont il sera question bientôt) en 4 types distincts. Ces 4 sérums, distribués actuel-

lement par l'Institut Pasteur, *seront dénommés sérums-réactifs* : A, B, C, D.

Le sérum A est préparé avec l'échantillon 17; le sérum B, avec l'échantillon 31; le sérum C, avec l'échantillon 18; le sérum D, avec l'échantillon 32.

Divers germes, identifiés avec eux, nous ont servi pour obtenir de nouveaux sérums, qui seront dénommés *sérums A, B et C, sans épithète*. Ces sérums, comme les « sérums-réactifs », jouissent, habituellement, d'un haut pouvoir thérapeutique.

Nous exposerons, tour à tour : la *préparation des suspensions microbiennes*; la *technique de l'agglutination*; les *résultats de nos expériences*, au double point de vue théorique et pratique.

PRÉPARATION DES SUSPENSIONS MICROBIENNES

On émulsionne les germes dans la solution physiologique (NaCl 1 p. 100), à raison de 1 centigramme de microbes par 20 cent. cubes de la solution.

Lorsqu'il s'agit d'une première culture, obtenue sur gélose-sérum (formolé) avec eau de condensation, on aura soin de ne pas prélever les colonies qui baignent au sein du liquide, car des traces de celui-ci peuvent entraver l'agglutination.

Lorsqu'il s'agit de cultures ultérieures, obtenues sur gélose T (sans eau de condensation), on ne court aucun risque.

Dans les deux cas, on s'adressera à des germes de 24 heures (37°) ou, mieux encore, à des germes plus jeunes. Rappelons aussi que les cultures de 16-18 heures en milieu MM conviennent très bien pour l'identification rapide des méningocoques.

TECHNIQUE DE L'AGGLUTINATION

Elle varie, selon que l'on se propose de faire simplement le diagnostic du type méningococcique et d'obtenir une réponse immédiate (précieuse, au point de vue épidémiologique et surtout thérapeutique) ou suivant que l'on désire connaître la limite exacte d'agglutination d'un échantillon donné, soit avec le sérum homologue, soit avec les sérums-réactifs, l'expérience demandant alors 24 heures.

MÉTHODE RAPIDE.

On verse 1 cent. cube d'émulsion dans 4 tubes et on ajoute, respectivement, 1/20 de cent. cube de chacun des sérums-réactifs A, B et C (inutile d'employer le sérum D, le type D n'ayant été rencontré jusqu'ici qu'une seule fois) et de sérum équin normal. On agite pendant quelques instants, en inclinant et redressant les tubes alternativement et on lit. Habituellement, le résultat cherché se trouve obtenu après 3-5 minutes. Dans le cas d'échantillons peu agglutinables, il faut prolonger l'agitation pendant 10 minutes environ. Dans le cas (très rare) d'échantillons hyperagglutinables (sensibles au sérum normal), on recommencera l'expérience avec 1/50 de cent. cube (exceptionnellement, 1/100) des 4 sérums.

MÉTHODE LENTE.

Supposons que l'on veuille déterminer la limite d'action des 4 sérums-réactifs (A, B, C, D) et du sérum équin normal, sur un méningocoque donné. On prépare 5 groupes de 4 tubes, contenant tous 1 cent. cube d'émulsion et l'on verse, respectivement, pour chaque groupe, 1/20, 1/50, 1/100, 1/200 de cent. cube de chaque sérum (il est très rare que l'on doive employer plus de 1/200 de cent. cube). On abandonne pendant 24 heures (température ordinaire) et on examine ensuite à l'œil nu (aidé de la loupe).

RÉSULTATS DE NOS EXPÉRIENCES

Avec la *méthode rapide*, le résultat, strictement qualitatif, tient à l'excès de sérum employé et à la vitesse obligée de la réaction. Toute agglutinine « non dominante » ne saurait manifester sa présence en un temps aussi court.

La *méthode lente* permet, au contraire, de pousser plus loin l'analyse des phénomènes et de résoudre les trois questions suivantes : *légitimité des types méningococciques* (révélés par l'agglutination); *leur fréquence respective* — *pouvoir agglu-*

tinogène des méningocoques — *agglutinabilité* des méningocoques.

LÉGITIMITÉ DES TYPES MÉNINGOCOCCIQUES;

LEUR FRÉQUENCE RESPECTIVE.

L'ensemble des échantillons, étudiés jusqu'ici par nous, se divise en deux groupes, suivant que les germes sont agglutinés ou non par le sérum équin normal. Nous examinerons d'abord le second groupe, seul important pratiquement.

Méningocoques inagglutinables par le sérum équin normal.

[De beaucoup les plus nombreux. Nous en avons étudié au moins 200.]

Un échantillon (D) se montre seul sensible au sérum D (sérum homologue) et sensible au seul sérum D. *D'où la notion d'un type D*, d'ailleurs exceptionnel actuellement.

7 échantillons apparaissent exclusivement sensibles au sérum-réactif C (préparé avec l'un d'eux). *D'où la notion d'un type C*, peu commun jusqu'ici.

Plus de la moitié des autres se révèlent sensibles au sérum-réactif B (ils sont toujours agglutinés à moins de 1/20 de cent. cube, habituellement à 1/100 ou 1/200). Parmi eux, 1/3 environ s'agglomèrent aussi par le sérum-réactif C (à 1/20 de cent. cube), quelques-uns par les sérums-réactifs C et A (à 1/20 de cent. cube). Ces agglutinations adventices évoluent plus lentement que l'agglutination dominante et nécessitent, pour se produire, une plus forte dose de sérum. *D'où la notion d'un type B*, très fréquent.

Moins de la moitié des autres se montrent sensibles au sérum-réactif A (ils sont toujours agglutinés à moins de 1/20 de cent. cube, habituellement à 1/100 ou 1/200). Parmi eux, 1/3 environ s'agglomèrent aussi par le sérum-réactif C (à 1/20 de cent. cube), un seul échantillon par les sérums C et B (à 1/20 de cent. cube). Ces agglutinations « mineures » progressent moins vite que l'agglutination « majeure » et ne sont obtenues qu'avec une quantité plus grande de sérum. *D'où la notion d'un type A*, très fréquent.

Méningocoques agglutinables par le sérum équin normal.

C'est-à-dire exceptionnellement agglutinables. Nous n'en avons rencontré que peu d'échantillons.

Lorsque l'action d'un des sérums reste dominante et que l'action des autres se rapproche de celle du sérum normal jusqu'à l'égaliser éventuellement, le diagnostic ne souffre pas de réelle difficulté. *Exemples.*

N° 83. — Agglutiné par le sérum B à 1/100 de cent. cube, par les sérums A, C et N (normal) à 1/20. — *C'est un B.*

N° 104. — Agglutiné par le sérum B à 1/200 de cent. cube, par les sérums A, C et N à 1/50. — *C'est un B.*

N° 67. — Agglutiné par le sérum B à 1/200 de cent. cube, par les sérums A, C et N à 1/100. — *C'est un B* (quantitativement très agglutinable, qualitativement fort peu).

N° 61. — Agglutiné à 1/200 de cent. cube par le sérum B, à 1/100 par le sérum C, à 1/10 par les sérums A et N. — *C'est un B.*

N° 26. — Agglutiné à 1/2.000 de cent. cube par le sérum B, à 1/500 par le sérum C, à 1/100 par le sérum A, à 1/50 par le sérum N. — *C'est un B.*

(Nous ne parlons pas ici du sérum D, qui se comporte *toujours* comme un sérum normal, sauf vis-à-vis de l'échantillon D.)

Lorsque deux sérums spécifiques exercent la même action, le type demeure indéterminé. *Exemple.*

N° 74. — Agglutiné par les sérums A et C à 1/200 de cent. cube, par le sérum B à 1/100, par le sérum N à 1/50.

(On pourrait tenter de lever l'indétermination en préparant des sérums avec de tels échantillons et en étudiant leurs propriétés sur des méningocoques des divers types.)

En résumé, la majorité des méningocoques, étudiés par nous, appartient soit au type A, soit au type B. Ces deux types offrent à peu près la même importance moyenne, mais tel d'entre eux pourra prédominer suivant le moment et le lieu (le type B prédomine nettement, ici, depuis plusieurs mois).

Ellis admet, également, deux types principaux. Nous avons pu nous assurer, avec lui, que nos méningocoques A correspondent à ses méningocoques I et nos méningocoques B à ses méningocoques II.

D'après Gordon, il existe 4 groupes, dont 2 plus fréquents

(I et II). Nous avons eu entre les mains plusieurs représentants de ces groupes, grâce à l'obligeance de notre savant collègue. Comparons, pour ces germes, le « diagnostic Gordon » avec le nôtre. .

ÉCHANTILLONS	DIAGNOSTIC GORDON	DIAGNOSTIC porté PAR NOUS
—	—	—
Jordan	Type I	Type A
Howes	— I	— A
Mac Phail	— II	— B
Foster	— II	— B
Cuff	— II	— B
Offord	— II	— B
Bunting	— III	— A
Wigglesworth	— IV	— B
P. 5	— IV	— B

(Mac Phail = N° 26; P. 5 = N° 104 — échantillons anormalement agglutinables étudiés plus haut.)

Nous avons préparé des sérums, en immunisant les chevaux avec les échantillons Jordan, Mac Phail, Bunting et Wigglesworth. Voici les caractères de ces sérums :

Sérum Jordan. — Se comporte comme un sérum A.

Sérum Mac Phail. — Très médiocre (et n'agissant guère que sur l'échantillon homologue). Par conséquent, le méningocoque Mac Phail, anormalement agglutinable, demeure à peine agglutinogène; nous avons déjà observé semblable opposition chez diverses espèces microbiennes.

Sérum Bunting. — Se comporte comme un sérum A.

Sérum Wigglesworth. — Se comporte comme un sérum B.

Nous considérons donc les types I et III de Gordon comme des A et ses types II et IV comme des B. D'ailleurs, quand on lit attentivement les intéressants travaux du bactériologue anglais, on arrive à une conclusion quasi identique.

Nous avons, enfin, soumis à l'action de nos sérums quelques-uns des échantillons de notre ami Dopter. Voici les résultats obtenus :

Échantillon MT (méningocoque de Dopter)	Type A
Échantillons PS et PW (paraméningocoques α de Dopter).	Type B
Échantillon PL (paraméningocoque β de Dopter). .	Type B
Échantillon PM (paraméningocoque β de Dopter). .	Type C
Echantillon P. 25 (paraméningocoque γ de Dopter).	Type D

Il est regrettable que la majorité des méningocoques, isolés

et conservés par Dopter, ait péri lors du début des hostilités et que notre parallèle soit ainsi demeuré incomplet.

POUVOIR AGGLUTINOGENÈ DES MÉNINGOCOQUES.

L'étude comparée des divers sérums A, B et C (sérums-réactifs ou autres) fournit des données intéressantes au double point de vue de l'*agglutination homologue* et de l'*agglutination hétérologue*.

Agglutination homologue.

[Ensemble des sérums A, sur tous les méningocoques A : ensemble des sérums B, sur tous les méningocoques B...]

D'une façon générale, les méningocoques représentent, on le sait, des germes peu agglutinogènes. Comme, d'autre part, le cheval (comparé au lapin) se montre médiocrement « agglutinopoiétique » envers eux, on comprend la faiblesse relative des sérums obtenus. C'est à cette faiblesse qu'il faut rapporter le caractère strictement univalent de ces sérums dans l'agglutination rapide et la spécificité, tantôt absolue, tantôt relative mais très nette, observée lors d'agglutination lente. La même faiblesse explique l'absence d'activité du sérum de certains chevaux et la disparition possible de cette activité. Avec des espèces bactériennes plus agglutinogènes, on ne constate rien de tel. La spécificité s'exprime ici quantitativement, les oscillations ne portent que sur le titre du sérum et ce titre ne descend jamais très bas, une fois son maximum atteint; à plus forte raison, ne s'annule-t-il en aucun cas.

Remarque. — S'il est facile de déterminer la limite supérieure d'action des sérums, leur limite inférieure échappe à toute appréciation exacte. Comme les sérums équins normaux peuvent agglutiner les méningocoques au $\frac{1}{5}$ et (plus rarement) au $\frac{1}{10}$ de cent. cube, la spécificité des sérums antiméningococciques ne saurait être affirmée [au-dessous du 20^e de cent. cube (limite forcée, mais arbitraire)]. L'absence d'agglutination (homologue ou hétérologue) au 20^e de cent. cube signifie bien résultat nul, pratiquement. Théoriquement, il est inadmissible que l'anticorps passe subitement d'une valeur définie à zéro, sous l'influence de conditions qui, ailleurs, le font simplement passer d'une valeur donnée à une valeur moindre.

En particulier, il est rare de voir des sérums qui agglutinent au delà de $\frac{1}{200}$ de cent. cube (alors que d'autres bactéries

fournissent des sérums actifs à 1/100.000, 1/500.000, voire 1/1.000.000 de cent. cube). — Si l'on étudie la série des saignées chez les divers chevaux, on constate que le titre agglutinant s'élève plus ou moins vite; puis, tantôt il demeure indéfiniment stationnaire (oscillations peu étendues), tantôt il fléchit et peut même tomber à zéro. Quelles sont les causes qui influent sur l'intensité et l'évolution des agglutinines? Toujours les mêmes.

Le microbe choisi. En général, les types A et C apparaissent les plus agglutinogènes. Avec le type B, on obtient moins facilement de bons sérums et ces sérums sont rarement très forts. C'est aux sérums B que se rapportent surtout le fléchissement et la perte d'activité déjà mentionnés. — D'ailleurs, les divers échantillons d'un même type offrent des aptitudes agglutinogènes variables.

L'animal traité. Certains chevaux ne donnent jamais d'agglutinines, d'autres en donnent de très médiocres (notamment avec le type B).

La méthode employée. La première semble, ici, la meilleure.

La forme de l'antigène? Rien de net, jusqu'à présent.

Agglutination hétérologue.

[Ensemble des sérums, sur l'ensemble des méningocoques.]

Les sérums A peuvent agglutiner certains B et certains C; les sérums B, certains A (jamais nous ne les avons vus agglutiner des C); les sérums C, certains A et certains B. — L'évolution des agglutinines « mineures » est toujours moins régulière que celle des agglutinines « majeures », comme nous l'avons du reste observé pour tous les sérums antimicrobiens, sauf le cas du sérum Shiga-origine, vis-à-vis de l'échantillon Flexner-origine : rappelons que le sérum Shiga agglutine plus fortement le bacille de Flexner que le bacille de Shiga.

AGGLUTINABILITÉ DES MÉNINGOCOQUES.

D'une façon générale, les méningocoques représentent des microbes assez peu agglutinables. En particulier, on observe de grandes variations, quant à la réaction homologue ou hétérologue, selon l'échantillon envisagé. Il n'existe aucun rapport entre l'agglutinabilité et le pouvoir agglutinogène, comme le démontre, sans aller plus loin, l'histoire du méningocoque Mac Phail.

L'étude que nous venons de faire impose donc la notion de 4 « types antigènes ». Cette notion offre une double importance *au point de vue pratique* : elle fournit un fil conducteur précieux dans les recherches épidémiologiques, notamment lors de l'examen des « porteurs de germes » ; elle constitue, d'autre part, une base solide pour la préparation et l'emploi des sérums thérapeutiques. — *Au point de vue théorique*, nous avons appris l'existence d'un « antigène dominant » chez tous les méningocoques : antigène A, B, C ou D, selon le cas. Mais, étant donnée la faiblesse relative des sérums et, partant, l'impossibilité de connaître leur limite inférieure d'action (*vide supra*), on doit se demander (par comparaison avec d'autres sérums antimicrobiens beaucoup plus efficaces) si les 4 types d'antigènes n'existeraient pas réellement chez chaque méningocoque. La réaction de Bordet-Gengou va répondre affirmativement à cette question.

ÉTUDE DE LA RÉACTION DE BORDET-GENGOU

Nous en avons fait un procédé quantitatif et superposable, dans la mesure du possible, à la réaction agglutinante ; ce qui permettra d'utiles comparaisons.

Les premières recherches ont été entreprises avec les sérums-réactifs ; les recherches ultérieures, avec l'ensemble de tous les sérums.

Nous étudierons, successivement : la *préparation des suspensions microbiennes* ; la *technique de la réaction* ; les *résultats de nos expériences*.

PRÉPARATION DES ÉMULSIONS MICROBIENNES

Comme pour l'agglutination, mais on plonge l'émulsion pendant 5 minutes dans l'eau bouillante avant de s'en servir. Nous avons pu nous convaincre que la réaction de Bordet-Gengou donne ainsi des résultats beaucoup plus réguliers, *avec toute espèce de germes*.

TECHNIQUE DE LA RÉACTION

Supposons, d'abord, le cas où l'on veut titrer un sérum en le faisant agir sur l'échantillon correspondant. On verse 1 cent. cube d'émulsion dans 8 tubes. Dans le premier, aucune addition ultérieure; dans les deux suivants, addition de sérum équin normal; dans le reste, addition de sérum spécifique. Le tout, d'après le schéma suivant :

- | | |
|---------------------------------------|---|
| 1. Émulsion seule. | |
| 2. Émulsion + sérum équin normal . . | $\left\{ \begin{array}{l} 1/100 \text{ de cent. cube.} \\ 1/200 \text{ de cent. cube.} \\ 1/100 \text{ de cent. cube.} \\ 1/200 \text{ de cent. cube.} \end{array} \right.$ |
| 3. Émulsion + sérum spécifique. . . . | $\left\{ \begin{array}{l} 1/500 \text{ de cent. cube.} \\ 1/1.000 \text{ de cent. cube.} \\ 1/2.000 \text{ de cent. cube.} \end{array} \right.$ |

(Il est plus rare que l'on soit amené à ajouter 1/5.000 de cent. cube du sérum spécifique.)

On verse, ensuite, 1/20 de cent. cube de sérum frais de cobaye (complément) dans chaque tube; on mêle et on laisse à l'étuve pendant une heure. Puis, on ajoute, toujours dans chaque tube, 1/20 de cent. cube de sérum hémolytique anti-mouton (plus ou moins dilué) et 1/20 de cent. cube de globules de mouton (lavés et ramenés au volume initial du sang). On mêle intimement et on replace à l'étuve. On surveille l'hémolyse et, quand elle est complète pour les « tubes-sérum normal », on examine les « tubes-sérum spécifique ». Le titre de ce sérum spécifique se trouve indiqué par le rang du dernier tube non hémolysé.

Remarques. L'émulsion seule constitue un témoin intéressant, mais pratiquement superflu.

La quantité de complément conseillée se montrera parfois excessive; cela dépend des animaux et de la saison (le complément est plus fort en hiver qu'en été).

La dilution de sérum hémolytique variera suivant la « force » de celui-ci, révélée par un titrage préalable.

Dans le cas où l'on désire étudier un sérum, en le faisant agir sur plusieurs échantillons du même type ou de types différents, on constitue autant de séries de 8 tubes qu'il existe d'échantillons.

Dans le cas où l'on désire étudier plusieurs sérums, en les faisant agir sur un seul échantillon, les groupes 1 et 2 demeurent conformes au schéma, mais on constitue autant de groupes 3 qu'il existe de sérums.

RÉSULTATS DE NOS EXPÉRIENCES

Nous considérons la réaction de Bordet-Gengou, telle que nous la mettons en œuvre, comme une excellente mesure du « pouvoir lytique » (bactériolytique) des sérums. Aussi l'avons-nous utilisée, au point de vue pratique, pour le *titrage des sérums thérapeutiques* — et, au point de vue théorique, pour l'étude des *types méningococciques*, de la « *faculté lysogène* » des *méningocoques* et de la *sensibilité de ces germes, vis-à-vis des lysines* (bactériolysines) *spécifiques*.

TITRAGE DES SÉRUMS THÉRAPEUTIQUES.

Ne possédant, actuellement, aucun moyen sûr de titrage *in vivo*, la méthode de Bordet-Gengou (quantitative) nous est apparue comme susceptible de résoudre le problème *in vitro* : espoir pleinement justifié.

Grâce à la collaboration assidue de notre ami Netter, dont on connaît la compétence en matière de méningite cérébro-spinale, nous avons pu établir la relation suivante : *tout sérum, qui fixe le complément, sous le volume de 1/2.000 (voire 1/1.000) de cent. cube, en présence de l'antigène homologue (ou d'antigènes du même type), jouit, dans la règle, d'un excellent pouvoir curatif, au regard des méningites occasionnées par le type correspondant de méningocoques*. L'analyse d'observations nombreuses et détaillées ne laisse aucun doute là-dessus. Est-ce à dire que les sérums thérapeutiques aient atteint une perfection absolue? Nullement. Et voici ce qu'il faut faire, croyons-nous, pour les rendre encore plus efficaces.

On recherchera, avec soin, des échantillons, soit rapidement envahissants, soit particulièrement tenaces et on immunisera des chevaux avec ces échantillons. Les sérums, ainsi obtenus, auront des chances de réussir dans les infections déterminées par des germes semblables et, *a fortiori*, par des germes « ordinaires ». Telle est la voie où nous sommes actuellement engagés.

Les méningocoques A et B étant, présentement, les agents presque exclusifs des méningites cérébro-spinales, nous avons préparé, sur la demande du professeur Netter, des sérums « A+B », par immunisation des chevaux avec un mélange (ââ) des deux types. Lorsque ces sérums fixent le complément, sous le volume de 1/2.000 (voire 1/1.000) de cent. cube, en présence des types A *et* B, ils sont susceptibles de guérir les « méningites A » *et* les « méningites B », comme l'a prouvé Netter.

Il est donc indiqué, pratiquement, de soigner tous les cas de méningite avec le sérum « A+B ». Les médecins, qui se trouvent au voisinage des laboratoires et connaissent ainsi, chaque fois, le type de méningocoque auquel ils ont affaire, pourront, après la première injection, *obligée*, de sérum « A+B », continuer le traitement avec un sérum monovalent (il le faudra, absolument, s'il s'agit d'un type C).

Nous venons de voir en quoi la réaction de Bordet-Gengou fournit des résultats clairs et précieux. Nous allons voir en quoi elle fournit de nouveaux résultats, aussi précieux, mais moins clairs de prime abord.

LES TYPES MÉNINGOCOCCIQUES ET LA RÉACTION DE BORDET-GENGOU.

[Nous laisserons dorénavant de côté ce qui concerne le type D.]

Voici ce que montre l'étude des sérums A, B et C (sérums-réactifs ou autres), quand on les fait agir, parallèlement, sur de nombreux méningocoques, étiquetés A, B et C d'après l'agglutination. La spécificité des sérums, uniquement quantitative ici, n'est pas constante; elle existe cependant le plus habituellement, bien que les valeurs, obtenues avec des germes hétérologues, se rapprochent volontiers de la valeur obtenue avec le germe homologue. Ces résultats d'ensemble ne sauraient détruire les données fournies par l'agglutination, mais ils demandent à être analysés de près et expliqués nettement. Entrons d'abord dans le détail des faits.

« POUVOIR LYSOGÈNE » DES MÉNINGOCOQUES.

Réaction homologue.

D'une façon générale, les méningocoques représentent des germes bien lysogènes, alors qu'ils demeurent, avons-nous vu, peu agglutinogènes. Comme, d'autre part, le cheval se montre bien « lysopoïétique » envers eux, on comprendra le caractère multivalent des sérums, leur activité constante et l'impossibilité de voir cette activité tomber à zéro — affaire d'échelle, plus grande ici que pour le phénomène de l'agglutination.

En particulier, on obtient aisément des sérums qui « fixent » à 1/2.000 de cent. cube (et même parfois à 1/5.000); avec les plus lysogènes, parmi les autres bactéries, on dépasse rarement la valeur 1/5.000. — D'autre part, le pouvoir lytique atteint d'ordinaire rapidement son maximum, contrairement au pouvoir agglutinant. Il demeure ensuite stationnaire (oscillations habituellement peu étendues) et ne fléchit que chez quelques sujets. Quelles sont les causes qui influent sur le pouvoir lysogène? Encore les mêmes que précédemment.

Le microbe choisi. D'une façon générale, les 3 types se montrent également lysogènes; en particulier, il faut tenir compte de l'échantillon utilisé.

L'animal traité. Certains chevaux donnent des sérums faibles; le titre de ces sérums atteint cependant, éventuellement, 1/500 de cent. cube.

La méthode employée. Avec la troisième méthode, on peut obtenir, en 15 jours, des sérums curatifs.

La forme de l'antigène? Rien de net, jusqu'ici.

Réaction hétérologue.

Dans la règle, disions-nous, les sérums demeurent spécifiques, mais la chose n'est pas constante. Voyons, de plus près.

Soit un sérum A (par exemple), examiné en présence de 3 méningocoques : A, B et C. La fixation, en présence du méningocoque A, sera toujours obtenue avec le volume minimum de sérum; en présence des méningocoques B et C, parfois aussi. — Parcourons, maintenant, les résultats observés lors des saignées suivantes, avec ce même sérum A. La fixation, en présence du méningocoque A, continuera à être

obtenue avec le volume minimum de sérum; les fixations anormales se montreront inconstantes et ne se correspondront pas d'une saignée à l'autre.

Donc : réaction homologue régulière, réactions hétérologues capricieuses.

SENSIBILITÉ DES MÉNINGOCOQUES AUX LYSINES SPÉCIFIQUES.

La réaction de Bordet-Gengou et, mieux encore, l'effet thérapeutique des sérums, démontrent la grande sensibilité des méningocoques aux lysines spécifiques.

De nombreuses recherches, entreprises sur diverses bactéries, nous ont amenés (nos collaborateurs et nous) à considérer tout microbe non seulement comme une « mosaïque de propriétés biologiques », mais encore comme une « mosaïque d'antigènes ». L'association de ces antigènes caractérise l'*espèce*, la dominance habituelle de l'un d'entre eux, le *type* (antigène). L'étude que nous venons de faire s'accorde pleinement avec cette conception. En effet, par leur force, les lysines spécifiques nous ont toujours révélé, dans chaque méningocoque, la coexistence des divers antigènes méningococciques; par leur faiblesse relative, les agglutinines nous ont toujours fait voir, dans chaque méningocoque, l'antigène dominant (et inconstamment, entrevoir les autres). Si l'action des lysines masque parfois la *caractéristique du type* au profit de la *caractéristique de l'espèce*, cette caractéristique du type reparaît immédiatement, quand on analyse les faits. Alors que le pouvoir lytique demeure constamment maximum pour tous les échantillons d'un groupe considéré, il ne s'élève, pour certains échantillons « étrangers », que d'une façon accidentelle et irrégulière. Sous des influences obscures, les chevaux peuvent réagir, exagérément, aujourd'hui à tel antigène non dominant, demain à tel autre; c'est ce que nous avons observé avec des bactéries très variées et nous ne nous en étonnons plus depuis longtemps.

On saisit donc bien que la réaction de Bordet-Gengou ne s'oppose nullement aux phénomènes d'agglutination et que les types méningococciques conservent leur légitimité et leur importance pratique.]

EXPÉRIENCES
SUR L'ACTION BACTÉRICIDE DE LA LUMIÈRE SOLAIRE
(LUMIÈRE BLANCHE TOTALE
ET LUMIÈRES PARTIELLES OU DE COULEURS)

par le Médecin principal MIRAMOND DE LAROQUETTE.

L'action des rayons solaires sur les bactéries, étudiée par de nombreux auteurs, a été surtout retenue comme une action destructive dite bactéricide, dans laquelle les rayons chimiques, et particulièrement les ultra-violets, auraient un rôle presque exclusif.

Cette donnée générale mérite d'être examinée de près, en raison des applications auxquelles elle conduit en hygiène et en thérapeutique. C'est elle en effet qui, depuis Finsen, a servi de base première aux méthodes photothérapiques et de cure solaire. Des faits nombreux pourtant, des observations biologiques, cliniques ou de la vie courante, particulièrement dans les pays chauds où les bactéries ne manquent pas, malgré tant de lumière à profusion répandue, paraissent montrer que l'action bactéricide de la lumière solaire n'est pas aussi efficace, aussi constante qu'on le croit généralement, et qu'elle demande pour s'exercer des conditions spéciales à préciser.

Les expériences que nous allons rapporter, et qui font suite à d'autres expériences personnelles (1909-1912) de même ordre, mais moins précises, ont été faites dans le but de vérifier ou d'ajouter dans ces questions quelques points importants : Dans quelle mesure la lumière solaire est-elle bactéricide dans l'air, dans les milieux liquides et solides ? Jusqu'à quelle profondeur agit-elle dans ces milieux ? Quelles intensités et quelles durées d'insolation cette action exige-t-elle ? De quelle manière s'exerce-t-elle ? Action chimique, action calorifique, dessiccation ? Quelles différences présentent, à ce point de vue, les diverses radiations du spectre solaire ?

Ces expériences ont été faites à Alger, en deux séries principales : la première en mai, juin, juillet 1914, la seconde en novembre, décembre 1916, avec la cordiale assistance, dans la première série, du médecin principal Roussel, dans la seconde, du D^r Alliot, tous deux successivement chefs du Laboratoire de bactériologie de l'Hôpital militaire d'Alger.

M. Roussel et M. Alliot ont bien voulu, pour chaque expérience, fournir les cultures et les milieux, présider aux ense-

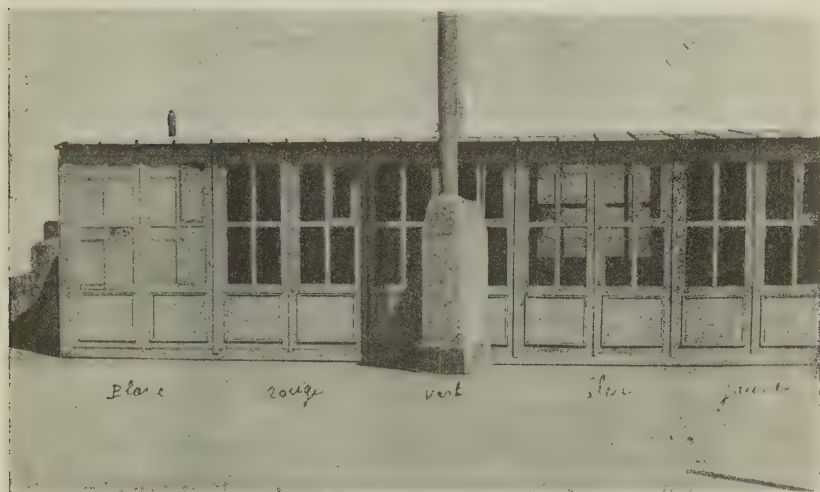


FIG. 1. — Laboratoire en serres vitrées blanche et de couleurs (Algérie).

mencements et aux repiquages, contrôler les résultats. Nous leur renouvelons, ici, nos bien sincères remerciements.

Les circonstances ne nous ont pas permis de poursuivre ces expériences aussi loin que nous le désirions ; telles quelles, cependant, elles permettent d'utiles déductions.

Pour certaines d'entre elles, nous avons utilisé des serres blanches et de couleurs (bleue, verte, jaune, rouge), que nous avons fait construire à Alger pour l'étude des actions biologiques de la lumière solaire et où, de 1911 à 1914, ont été en permanence cultivées des plantes, des bactéries, des moisissures, et diverses espèces animales :

Ces serres (fig. 1 et 2), symétriquement disposées sur la ter-

rasse d'une maison en plein soleil, sont orientées nord-sud, de manière que chacune d'elles reçoive une égale quantité de lumière. Un côté de chaque serre est, pendant le jour, constamment au soleil; le côté opposé permet l'observation permanente à l'ombre, mais dans une lumière diffuse intense.

Dans la serre blanche, un compartiment fermé, formant caisse, a été réservé comme chambre noire où des cultures sont placées pour servir de témoins.

La première série des expériences ici rapportées, faite en été, a permis d'agir sur les bactéries, avec une intensité maximum de rayonnement. La deuxième série, faite en automne, a permis d'agir avec des intensités modérées proches de celles observées en été dans le Nord de la France. Voici des *températures* relevées dans les serres, pendant les deux saisons :

	SERRES					CHAMBRE
	BLANCHE	BLEUE	VERTE	JAUNE	ROUGE	NOIRE
<i>Juillet 1914 :</i>	Degrés	Degrés	Degrés	Degrés	Degrés	Degrés
Moyenne à l'ombre .	33	30	27	31	30	25
Moyenne au soleil .	44	37	34	38	37	»
Maximum observé .	55	46	42	46	46	35
Minimum	19	17	16	17	17	18
<i>Décembre 1914 :</i>						
Moyenne à l'ombre .	22	16	15	17	17	15
Moyenne au soleil .	35	27	25	29	28	»
Maximum	43	38	35	39	37	26
Minimum	14	12	10	12	13	13
<i>Coefficient d'action chimique</i>	100	90	2	3	0,1	0
<i>Coefficient d'évaporation</i>	100	65	54	84	66	15

Les coefficients d'évaporation ont été établis en mesurant la quantité d'eau évaporée dans chaque serre, en des temps donnés, dans des cristallisoirs tous symétriquement disposés au soleil, et les coefficients d'action chimique, en mesurant le temps d'insolation nécessaire pour obtenir une même teinte au papier photographique, sous les différents verres.

Les clichés de la fig. 3 donnent l'analyse spectrographique de ces verres — les verres de couleur ne sont pas absolument

monochromatiques, mais ils filtrent des parties bien distinctes du spectre, et notamment délimitent les parties dites chimiques et calorifiques. Pour éliminer l'ultra-violet, nous avons, dans certaines expériences, employé des lames de verre épaisses



FIG. 2. — Serre blanche ouverte.

de 1 centimètre et pour l'infra-rouge des récipients (cristallisoirs, boîtes de Petri) remplis d'eau.

*
* *

Voici, résumées, les diverses expériences. Certaines ont été répétées trois ou quatre fois. Nous ne retenons ici qu'un exemple de chaque.

BACTÉRIES DANS L'AIR.

I. — Sur une terrasse de l'hôpital militaire Maillot, à Alger, le 20 juin 1914, à 16 heures, à la fin d'une journée très claire, très chaude et sans vent (température moyenne, au soleil, 40 à 46°), on fait passer par aspiration (siphon) 5 litres d'air par flacon dans 2 flacons de bouillon stérilisé que l'on met aussitôt après l'étuve : l'un se trouble, le 2^e jour; l'autre reste stérile.

II. — Le 24 juin, à 11 heures, par un temps très clair et très chaud (42°), on fait passer 12 litres d'air par flacon dans 4 flacons de bouillon stérilisé. Pour 1 et 2, l'air est prélevé en plein soleil devant la galerie de cure solaire de l'hôpital; pour 3 et 4, l'air est prélevé à l'ombre, dans un coin du jardin voisin de la galerie, pas de vent.

Les flacons mis à l'étuve : 1 se trouble le 3^e jour, 2 reste stérile, 3 et 4 se troublent dans les 24 heures.

Conclusion. — Par une longue et forte insolation, l'air est très appauvri en germes, mais non absolument stérilisé.

BACTÉRIUM COLI DANS L'EAU.

III. — Six boîtes de Petri, contenant chacune 75 cent. cubes d'eau, sous 10 millimètres d'épaisseur, sontensemencées chacune avec XV gouttes de culture de *B. coli* en bouillon, puis exposées au soleil le 17 juin, de 10 à 15 heures, soit pendant 5 heures.

1 et 2, découvertes à l'air libre;

3 et 4, découvertes et entourées de glace, dans un cristalliseur;

5 et 6, entourées de glace, dans un cristalliseur et couvertes avec une plaque de verre épaisse de 1 centimètre.

Temps très clair. Température à 11 heures : 42° au thermomètre brillant, 49° au thermomètre noir; pas de vent. A 17 heures, avec l'eau restant dans les boîtes, onensemence 12 tubes de bouillon phéniqué (2 par boîte); le lendemain, tous les tubes ont poussé (*B. coli* vérifié).

Conclusion. — Le *B. coli* dans l'eau, sous 10 millimètres d'épaisseur, a résisté à 5 heures de très forte insolation.

IV. — Quatre boîtes de Petri, contenant chacune 20 cent. cubes d'eau, sous 2^{mm}5 d'épaisseur, ensemencées chacune avec XV gouttes de culture de *B. coli*, sont exposées au soleil le 27 juin, de 9 heures à 17 heures, soit pendant 8 heures.

1 et 2, découvertes;

3 et 4, fermées.

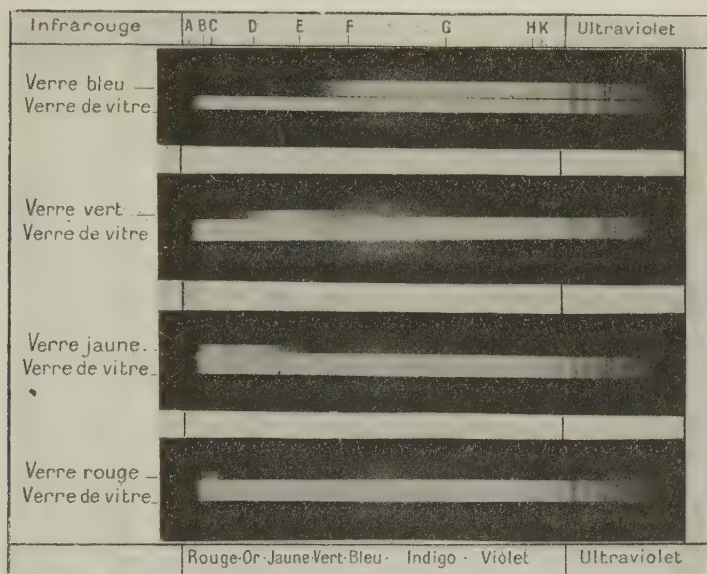


FIG. 3. — Spectrogrammes des verres des serres blanche et de couleurs.
Lumière solaire, 10 juin 1914.

(Clichés sur plaques Wratten panchromatiques.)

Temps clair. Température à 9 heures : 34° au thermomètre brillant, 39° au thermomètre noir. A 17 heures, repiquage sur tube de bouillon phéniqué : 2 par boîte. Rien ne pousse.

Conclusion. — Le *B. coli* dans l'eau, sous 2^{mm}5 d'épaisseur, a été tué même en boîte fermée, à travers le verre, par 8 heures d'insolation.

V. — Six boîtes de Petri, contenant chacune 20 cent. cubes d'eau sous 2^{mm}5 d'épaisseur, ensemencées de *coli*, sont exposées

découvertes au soleil, le 3 juillet; temps clair, température : 40°.

1 et 2, de 9 à 11 heures, soit : 2 heures d'insolation ;
 3 et 4, de 9 à 13 heures, — : 4 — d'insolation ;
 5 et 6, de 9 à 15 heures, — : 6 — d'insolation.

A 16 heures, 6 tubes de bouillon phéniqué sontensemencés avec l'eau restant dans les boîtes, 1 tube par boîte : 1, 2 et 3 poussent dans les 24 heures; 4, 5 et 6 restent stériles.

Conclusion. — Le *B. coli* dans l'eau, sous 2^{mm}5 d'épaisseur, a été tué en 3 ou 4 heures de forte insolation.

VI. — Six boîtes de Petri, contenant (1, 2 et 3) 20 cent. cubes d'eau (4, 5 et 6) 40 cent. cubes, sontensemencées avec XV gouttes de culture de *B. coli* et exposées au soleil, le 4 juillet. Température : 38-40°, au thermomètre brillant.

1 20 c. c.	d'eau exposée	4 h.	Découverte.	de 1 cent. d'épaisseur.	Repiquage sur bouillon phéniqué.	Négatif.
2 20 c. c.		4 h.	Découverte.			
3 20 c. c.		4 h.	Sous un verre			
4 40 c. c.		7 h.	Découverte.			Positif.
5 40 c. c.		7 h.	Découverte.			Positif.
6 40 c. c.		7 h.	Sous un verre			Positif.

Conclusion. — Le *B. coli*, tué en 4 heures dans 20 cent. cubes d'eau, épaisseur 2^{mm}5, a résisté à 7 heures dans 40 cent. cubes, épaisseur 5 millimètres. La filtration des rayons par le verre épais, qui absorbe l'ultra-violet, n'a pas modifié les effets obtenus.

VII. — Quatre boîtes de Petri, contenant 20 cent. cubes d'eauensemencées de *B. coli*, sont exposées au soleil, le 4 juillet (température 40°), sous leur couvercle retourné et plein d'eau.

1 et 2, pendant 4 h., de 9 à 13 h.	Repiquage sur	{	Positif, pour 1 et 2
3 et 4, — 7 h., de 9 à 16 h.	bouillon phéniqué.		

Conclusion. — La filtration des rayons par une couche d'eau de 1 centimètre, qui absorbe une partie de l'infra-rouge et de l'ultra-violet, n'a pas modifié les résultats précédemment obtenus avec le rayonnement total.

VIII. — Dix boîtes de Petri, contenant chacune 20 cent. cubes d'eau, sous 2^{mm}5 d'épaisseur,ensemencée avec XV gouttes de

culture de *B. coli*, sont exposées au soleil le 10 juillet, dans les conditions suivantes :

1	Découvertes	de 9 à 12 h.,	d'insolation,	4 c.c.	Repi-	Négatif.
2	à	soit : 3 h.		d'eau		
3	l'air libre.	de 9 à 13 h.,		1 c.c.		Négatif
		soit : 4 h.		d'eau		
4	Découvertes	de 9 à 14 h.,	après	0 c.c. 5	quage	Négatif.
5	mais	soit : 5 h.	laquelle	d'eau	sur	
6	entourées	de 9 à 12 h.,	il reste	14 c.c.	bouil-	Positif.
	de glace,	soit : 3 h.	dans les	d'eau	lon	
	dans un	de 9 à 13 h.,	boîtes :	12 c.c.	phé-	Positif.
	cristallisoir,	soit : 4 h.		d'eau	niqué.	
		de 9 à 14 h.,		10 c.c.		Positif.
		soit : 5 h.		d'eau		

Conclusion. — Le refroidissement continu de la boîte par la glace a diminué l'évaporation et empêché la stérilisation de l'eau; la chaleur a donc une part importante dans l'*affection bactéricide* de la lumière solaire; elle paraît, en partie, agir par l'évaporation.

IX. — Dix boîtes de Petri, contenant 20 cent. cubes d'eau,ensemencées de *B. coli*, sont, le 3 juillet, exposées au soleil, de 9 heures à 16 heures (soit pendant 7 heures), température : 40 à 45°.

1 et 2	Découvertes	(un intervalle de 1 centimètre séparant le verre de la boîte, sous un verre	rouge.	A la fin	de l'expérience l'eau est réduite dans les boîtes à	10 c.c.	Repi-	Pos.
3 et 4	de		jaune.	de		10 c.c.	quage	Pos.
5 et 6	1 centimètre		vert.	l'expérience		12 c.c.	sur	
7 et 8	séparant		bleu.	l'eau		10 c.c.	bouil-	Pos.
9 et 10	le verre		de vitre.	est réduite		2 c.c.	lon	Pos.
	de la boîte,			dans			phé-	
	sous un verre			les boîtes			niqué.	Nég.
				à				

Conclusion. — La filtration de la lumière par des verres de couleur, quels qu'ils soient, réduit de beaucoup son pouvoir d'évaporation et parallèlement son action bactéricide.

BACTERIUM COLI DANS LE BOUILLON.

X. — Quatre tubes de bouillon ensemencés de *B. coli* sont exposés au soleil : 1 et 2 pendant 6 heures, 3 et 4 pendant 8 heures, le 2 juillet; température : 38 à 40°. Repiquage le soir, sur bouillon phéniqué, négatif pour 3 et 4, positif pour 1 et 2.

Conclusion. — Le *B. coli* en bouillon, dans un tube à essai de 15 millimètres, a résisté à 6 heures de forte insolation, mais a été tué en 8 heures.

XI. — Six boîtes de Petri, contenant 20 cent. cubes de bouillonensemencé de *B. coli*, sont exposées ouvertes au soleil, le 3 juillet; température : 42°.

1 et 2	exposées de 9 à 11 h., soit pendant 2 heures	Repi- quage.	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ et } 2 \text{ pos.} \\ 3 \text{ nég.}, 4 \text{ pos.} \\ 5 \text{ et } 6 \text{ nég.} \end{array} \right.$
3 et 4	— de 9 à 13 h., soit — 4 heures		
5 et 6	— de 9 à 15 h., soit — 6 heures		

Conclusion. — Le *B. coli* en bouillon, étalé en lame mince de 2^{mm}5, est détruit comme dans l'eau par 4 à 5 heures d'insolation.

XII. — Dix boîtes de Petri, contenant 20 cent. cubes de bouillonensemencé de *B. coli*, sont exposées ouvertes, le 4 juillet, de 9 heures à 16 heures, soit pendant 7 heures; température : 42°.

1 et 2	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Sous} \\ \text{un} \\ \text{verre} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{de vitre.} \\ \text{bleu.} \\ \text{vert.} \\ \text{jaune.} \\ \text{rouge.} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Les verres} \\ \text{sont maintenus} \\ \text{à 1 cent. de la boîte} \\ \text{pour permettre} \\ \text{l'évaporation.} \end{array} \right.$	Repi- quage.	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ et } 2 \text{ négatifs.} \\ 3 \text{ et } 4 \text{ positifs.} \\ 5 \text{ et } 6 \text{ positifs.} \\ 7 \text{ et } 8 \text{ positifs.} \\ 9 \text{ et } 10 \text{ positifs.} \end{array} \right.$
3 et 4					
5 et 6					
7 et 8					
9 et 10					

Conclusion. — Résultats identiques à ceux de l'expérience IX sur le *B. coli* dans l'eau. Les lumières filtrées ont un pouvoir réduit, aussi bien le bleu que le rouge.

XIII. — Douze tubes de bouillonensemencés de *B. coli* sont placés, le 13 mai, dans les serres blanche et de couleurs (2 dans chaque serre) et 2 en chambre noire, à l'ombre, mais sous une intense lumière diffuse.

Ils servent le 25 juin, soit 43 jours après, à repiquer des tubes de bouillon phéniqué qui sont mis à l'étuve; tous poussent dans les 24 heures.

Conclusion. — En tubes de bouillon, le *B. coli* a vécu à la lumière diffuse blanche et de couleur pendant 43 jours.

BACTERIUM COLI SUR POMME DE TERRE.

XIV. — Deux tubes de culture fraîche de *B. coli* sur pomme de terre sont exposés au soleil, le 26 juin, de 9 heures à 16 heures, soit pendant 7 heures; température : 38 à 40°. Repiquage le soir sur bouillon phéniqué, positif sur les 2 tubes dans les 24 heures.

Conclusion. — Le *B. coli* sur pomme de terre a résisté à 7 heures de forte insolation.

BACTERIUM COLI SUR GÉLOSE.

XV. — Six boîtes de culture fraîche de *B. coli*, sur gélose verte (milieu de Fowam), sont exposées découvertes au soleil, le 4 juillet; température : 40°.

1	pendant 30 minutes.	Repiquage sur bouillon phéniqué.	Positif.
2	— 1 heure. .	Repiquage sur bouillon phéniqué.	Positif.
3	— 1 h. 30 . .	Repiquage sur bouillon phéniqué.	Positif.
4	— 2 heures .	Repiquage sur bouillon phéniqué.	Négatif.
5	— 2 h. 30 . .	Repiquage sur bouillon phéniqué.	Négatif.
6	— 3 heures .	Repiquage sur bouillon phéniqué.	Négatif.

Sur 4, 5 et 6, dessiccation très accusée de la culture et du milieu; la gélose est coagulée, le prélèvement avec l'ose de platine est presque impossible, l'ensemencement en bouillon est fait avec un fragment de gélose.

Conclusion. — Sur gélose, le *B. coli* a été tué en 2 heures.

XVI. — Six boîtes de culture fraîche de *B. coli* sur gélose verte sont exposées au soleil, le 13 juillet, de 9 heures à 16 heures, soit pendant 7 heures; température : 40°.

1	à l'air libre. Découvert. . .	Un intervalle de 2 cent. est maintenu entre le verre et les boîtes pour l'évaporation.	Repiquage sur bouillon phéniqué.	1 négatif.
2	sous verre de vitre			2 négatif.
3	— bleu			3 négatif.
4	— vert			4 négatif.
5	— jaune			5 négatif.
6	— rouge			6 négatif.

Conclusion. — Sur gélose, le *B. coli* a été tué sous les verres de couleur comme à l'air libre, par 7 heures d'insolation.

XVII. — Sept boîtes de Petri, contenant des cultures fraîches de *B. coli* sur gélose verte, sont exposées au soleil; température : 38-40°, de 12 heures à 16 heures.

1	Découverte à l'air libre	Repiquage.	1 négatif.	Dessiccation très accusée du milieu et des cultures.
2	Sous un verre de vitre, épais de 8 millimètres	—	2 négatif.	
3	Sous son couvercle retourné et plein d'eau.	—	3 négatif.	
4	Sous un verre bleu de 5 milli- mètres d'épaisseur.	Repiquage.	4 positif.	Dessiccation légère. prélèvement facile.
5	Sous un verre bleu de 5 milli- mètres d'épaisseur.	—	5 positif.	
6	Sous un verre jaune de 5 mil- limètres d'épaisseur.	—	6 positif.	
7	Sous un verre rouge de 5 mil- limètres d'épaisseur.	—	7 positif.	

Un intervalle de 2 centimètres est maintenu pour l'évaporation entre les verres et les boîtes.

Conclusion. — Sur gélose, le *B. coli* a été tué en 4 heures sous le verre épais et sous le couvercle plein d'eau, retenant la plus grande partie de l'infra-rouge et de l'ultra-violet. Il a résisté sous tous les verres de couleur, même le bleu.

XVIII. — Quatre boîtes de cultures fraîches de *B. coli* sur gélose verte sont exposées au soleil pendant 4 heures, de 9 heures à 13 heures, le 10 juillet; température : 40°.

1 Découverte à l'air libre.	} Repiquage	{	Négatif.
2 Découverte, mais la culture protégée par une mince lame de peau de porc (1 millim. d'épaisseur).			Positif.
3 Découverte, culture protégée par une mince lame de lard (1 millimètre).		sur	{
4 Découverte, culture protégée par une mince lame de muscle.		bouillon.	
			Positif.

Dans la boîte 2, la lamelle de peau s'est desséchée au soleil et recroquevillée laissant, à la fin de l'expérience, la culture à nu; dans 3 et 4, les lamelles, un peu réduites, étaient restées adhérentes.

Conclusion. — De minces couches (1 millimètre) de peau, de graisse ou de muscle protégeant les cultures ont empêché la destruction du *B. coli*.

XIX. — Quatre boîtes de *B. coli* sur gélose verte sont exposées au soleil de 9 heures à 13 heures, le 15 juillet.

1 Boîte découverte, à l'air libre. Culture à nu.	} Repiquage	{	Négatif.
2 Boîte découverte, mais culture couverte par une mince lame de lard de 1 millimètre d'épaisseur.			Positif.
3 Boîte découverte, entourée de glace dans un cristalliseur. Culture à nu.		sur	{
4 Boîte découverte, entourée de glace dans un cristalliseur. Culture couverte par une lame de lard.		bouillon.	
			Positif.

Conclusion. — La glace entourant les boîtes a empêché la dessiccation de la gélose et des cultures, qui ont résisté, même à nu, à 4 heures de forte insolation.

BACILLE D'EBERTH SUR GÉLOSE.

XX. — Six boîtes de culture fraîche de bacille d'Eberth sur gélose verte sont exposées, découvertes au soleil, le 8 juillet 1914, à 9 heures; température : 36-38°.

1	pendant 30 minutes.	$\left. \begin{array}{c} \text{Repiquage} \\ \text{sur} \\ \text{bouillon.} \end{array} \right\}$	Positif.	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Dessiccation légère de la} \\ \text{culture, prélèvement fa-} \\ \text{cile, pour l'ensemencement} \\ \text{en bouillon.} \end{array} \right.$
2	— 1 heure. .		Positif.	
3	— 1 h. 30 . .		Positif.	
4	— 2 heures .		Négatif.	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Dessiccation très accu-} \\ \text{sée. Gélose craquelée. Pré-} \\ \text{lèvement impossible, ense-} \\ \text{mencement avec un frag-} \\ \text{ment de gélose.} \end{array} \right.$
5	— 2 h. 30 . .		Négatif.	
6	— 30 minutes.		Négatif.	

Conclusion. — Le bacille d'Eberth comme le *B. coli* est tué sur gélose en 2 heures d'insolation.

XXI. — Six boîtes de culture de bacille d'Eberth sur gélose verte sont exposées au soleil, découvertes, le 9 juillet 1914, à 9 heures; température : 40°.

1	Culture à nu	Pendant 1 heure.	Repiquage.	Positif.
2	Culture couverte par une mince couche de vaseline, 1/2 millimètre environ	Pendant 1 heure.	Repiquage.	Positif.
3	Culture à nu	— 2 heures.	—	Négatif.
4	Culture couverte de vaseline	— 2 —	—	Positif.
5	Culture à nu	— 3 —	—	Négatif.
6	Culture couverte de vaseline	— 3 —	—	Négatif.

Conclusion. — La vaseline en couche très mince a retardé d'une heure environ la destruction du bacille d'Eberth.

STREPTOCOQUE SUR POMME DE TERRE ET EN BOUILLON.

XXII. — Quatre tubes de culture fraîche de Streptocoque, 2 sur pomme de terre, 2 en bouillon, sont exposés au soleil, le 26 juin 1914, de 9 heures à 16 heures, soit pendant 7 heures; température : 38°. Repiquage sur bouillon positif pour les 4 tubes.

Conclusion. — Le Streptocoque en tubes, sur pomme de terre et en bouillon, a résisté à 7 heures d'insolation.

STAPHYLOCOQUE SUR POMME DE TERRE, EN BOUILLON ET SUR GÉLOSE.

XXIII. — Quatre tubes de culture fraîche de Staphylocoque, 2 sur pomme de terre et 2 sur bouillon, sont exposés au soleil

le 26 juin 1914, de 9 heures à 16 heures. Repiquage sur bouillon positif pour tous les tubes.

Conclusion. — Le *Staphylocoque*, en tubes sur pomme de terre ou bouillon, a résisté à 7 heures d'insolation.

XXIV. — Une culture fraîche de *Staphylocoque* (citreus) en bouillon sert à ensemercer, le 30 novembre 1916, 12 boîtes de gélose qui sont placées 2 par 2 bien au soleil dans les serres blanche et de couleur, et 2 autres en chambre noire. Elles y restent jusqu'au 6 janvier et y sont journellement observées; elles y reçoivent en moyenne, malgré la saison, 6 à 7 heures de soleil par jour, ce qui, pour les 38 jours, représente environ 250 heures d'insolation et 130 heures de lumière diffuse.

Elles sont repiquées le 38^e jour sur bouillon.

Le tableau ci-dessous résume le résultat des observations et du repiquage.

	CULTURES	DÉBUT	ASPECT le 8 ^e jour	ASPECT le 15 ^e jour	ASPECT le 30 ^e jour	REPIQUAGE le 38 ^e jour
S. blanche.	1	3 ^e j.	Assez belle, blanche.	Médiocre, blanche.	Desséchée, grise.	Négatif.
S. bleue.	2	2 ^e j.	Belles, jaune clair.	Assez belles, jaunes.	Médiocres, minces, jaunes.	2 négatifs.
S. verte.	2	2 ^e j.	Belles, jaunes.	Belles, jaunes.	Médiocres, minces, jaunes.	2 négatifs.
S. jaune.	2	2 ^e j.	Belles, jaunes.	Belles, jaunes.	Médiocres, minces, jaunes.	2 négatifs.
S. rouge.	2	2 ^e j.	Belles, jaunes.	Belles, jaunes.	Médiocres, minces, jaunes.	1 nég., 1 pos.
Ch. noire.	2	2 ^e j.	Très belles, jaunes.	Très belles, jaunes.	Assez belles, jaunes.	2 positifs.

En résumé : Cultures bien venues partout, sauf en lumière blanche où elles n'ont pas pris leur couleur jaune normal et où la dessiccation a été très forte, plus belles dans le noir. Mortes partout en 38 jours, sauf dans le noir (2 sur 2) et sur le rouge (1 sur 2).

XXV. — Avec la même culture de *Staphylocoque*, le 30 novembre, 12 tests de papier sont ensemenés et placés 2 par 2 dans des boîtes de Petri, qui sont mises au soleil dans les serres. Ces tests sont repiqués dans des tubes de bouillon à

l'étuve, un le 22 novembre (22^e jour), l'autre le 6 janvier (38^e jour).

Résultats :	SERRE blanche —	SERRE bleue —	SERRE verte —	SERRE jaune —	SERRE rouge —	CHAMBRE noire —
Repiquage du 22 ^e j.	Négatif.	Positif.	Positif.	Positif.	Positif.	Positif.
— 38 ^e j.	Négatif.	Négatif.	Positif.	Négatif.	Négatif.	Positif.

Conclusion. — Sur tests de papier, le *Staphylocoque* a résisté partout sauf dans le blanc à 22 jours ; il a été tué partout en 38 jours, sauf dans le vert et le noir.

XXVI. — Douze tubes de bouillon ensemencés le 21 décembre avec du *Staphylocoque* (citreus) sont mis 2 au soleil dans chaque serre et 2 en chambre noire, belles cultures dans tous les tubes. Repiquées sur bouillon le 6 janvier, soit le 17^e jour. Après environ 100 heures d'insolation et 80 heures de lumière diffuse, repiquage positif pour tous les tubes.

Conclusion. — Le *Staphylocoque* en bouillon a bien poussé au soleil en lumière blanche et en lumière colorée et a résisté pendant 16 jours.

XXVII. — Douze tubes de gélose inclinée ensemencés le 21 décembre avec une culture fraîche de *Staphylocoque* (citreus) sont placés 2 dans chaque serre au soleil et 2 en chambre noire. Le 6 janvier, ils sont repiqués sur tubes de bouillon aussitôt mis à l'étuve.

	CULTURES	DÉBUT	ASPECT le 8 ^e jour	ASPECT le 17 ^e jour	REPIQUAGE
S. blanche.	2	1 ^{er} j.	Tr. belles, blanches.	Assez belles, un peu sèches, blanches.	2 positifs.
S. bleue...	2	1 ^{er} j.	Tr. belles, jaunes.	Belles, jaunes.	2 positifs.
S. verte...	2	1 ^{er} j.	Tr. belles, jaunes.	Belles, jaunes.	2 positifs.
S. jaune...	2	1 ^{er} j.	Tr. belles, tr. jaunes.	Belles, jaunes.	2 positifs.
S. rouge...	2	1 ^{er} j.	Tr. belles, jaunes.	Belles, jaunes.	2 positifs.
Ch. noire.	2	1 ^{er} j.	Tr. belles, jaunes.	Très belles, jaunes.	2 positifs.

Conclusion. — Sur gélose en tube, le *Staphylocoque* bien venu partout a résisté partout à 16 jours d'insolation modérée.

Une culture venue blanche dans la serre blanche, repiquée sur un tube de gélose, a donné à l'étuve une culture jaune.

VIBRION CHOLÉRIQUE SUR GÉLOSE ET EN BOUILLON.

XXVIII. — *Douze tubes de gélose inclinée* sont ensemencés le 30 novembre 1916, avec une culture fraîche de *Vibrium cholérique* provenant de l'Institut Pasteur d'Alger et placés dans les serres au soleil et 2 en chambre noire. Repiquage sur bouillon le 6 janvier (38^e jour).

	CULTURES	DÉBUT	ASPECT GÉNÉRAL	REPIQUAGE
Serre blanche.	0	"	"	"
Serre bleue. . .	2	Le 4 ^e jour.	Assez belles.	Positifs.
Serre verte. . .	1	Le 3 ^e jour.	Assez belle.	Positif.
Serre jaune. . .	1	Le 3 ^e jour.	Assez belle.	Positif.
Serre rouge. . .	2	Le 4 ^e jour.	Assez belles.	Positifs.
Ch. noire. . . .	1	Le 4 ^e jour.	Belle.	Positif.

Conclusion. — Sur tubes de gélose, le *Vibrium cholérique* bien venu partout sauf dans blanc a résisté partout à 38 jours d'insolation.

XXIX. — *Douze tubes de gélose inclinée*, ensemencés le 21 décembre avec du *vibrium cholérique*, donnent dans *toutes* les serres, même en lumière blanche, de belles cultures venues dès le 2^e jour. Repiquées le 6 janvier, soit le 17^e jour, elles donnent *toutes*, à l'étuve, de belles cultures en bouillon.

XXX. — *Douze tubes de bouillon*, ensemencés le 21 décembre avec du *vibrium cholérique*, donnent dans *toutes* les serres de belles cultures venues dès le 2^e jour. Repiquage, le 6 janvier, négatif dans le blanc et le bleu, positif dans le vert, le jaune, le rouge et le noir.

MICROCOCCUS MELITENSIS SUR GÉLOSE ET EN BOUILLON.

XXXI. — *Douze tubes de gélose inclinée* sont ensemencés le 30 novembre avec une culture fraîche de *micrococcus melitensis* et placés 2 dans chaque serre au soleil et 2 en chambre noire. Repiquage sur bouillon le 6 janvier (38^e jour).

	CULTURES VENUES	DÉBUT le	ASPECT le 8 ^e jour	ASPECT le 16 ^e jour		REPIQUAGE le 38 ^e jour
				Culture	Milieu	
Serre blanche.	2	3 ^e j.	Belles.	2 négatifs.
Serre bleue...	1	6 ^e j.	Médiocre.	Négatif.
Serre verte...	0	»	»	»
Serre jaune...	1	6 ^e j.	Assez belle.	Positif.
Serre rouge...	1	5 ^e j.	Assez belle.	Positif.
Ch. noire.....	2	3 ^e j.	1 médiocre. 1 belle.	2 positifs.

Conclusion. — Sur gélose en tube, développement partout, sauf dans le vert, aussi bien venu dans le blanc que dans le noir, mais plus rapidement détruit.

XXXII. — Douze tubes en bouillon sontensemencés le 20 décembre avec une culture fraîche de *melitensis* poussée en 48 heures à l'étuve et mis 2 dans chaque serre au soleil, et 2 en chambre noire. Repiquage sur bouillon le 10 janvier (21^e jour).

	CULTURES VENUES			REPIQUAGE le 10 janvier	
		Le 6 janvier, les cultures venant mal, les 12 tubes sont retirés des serres, et mis à l'étuve, où certaines se mettent à pousser; résultat ci-contre :			
Ser. blanche.	2 médiocres.		2	2 médiocres.	2 négatifs.
Ser. bleue. .	2 médiocres.		2	2 médiocres.	2 négatifs.
Ser. verte .	0			»	»
Ser. jaune. .	1 médiocre.		1	as. belle.	Positif.
Ser. rouge. .	0		2	belles.	2 positifs.
Ch. noire . .	0		2	belles.	2 positifs.

Conclusion. — *Microc. melitensis* a médiocrement poussé à la lumière blanche et bleue et y est mort rapidement; il n'a pas poussé dans le rouge et le noir, mais y est resté vivant pendant 20 jours.

XXXIII. — Douze tubes de gélose inclinée sontensemencés le 30 novembre avec une culture fraîche de *paramelitensis* et placés, le 30 novembre, 2 dans chaque serre au soleil et 2 en chambre noire.

	CULTURES VENUES			REPIQUAGE le 10 janvier
Ser. blanche.	2 moyennes.	Le 6 janvier, les 12 tubes, retirés des serres, sont mis à l'étuve et y poussent :	2 moyennes.	2 négatifs.
Ser. bleue.	0		0	0
Ser. verte.	1 moyenne.		2 belles.	2 positifs.
Ser. jaune.	1 belle:		2 belles.	2 positifs.
Ser. rouge.	0		2 belles.	2 positifs.
Ch. noire.	0		2 belles.	2 positifs.

COCOBACILLE D'HÉRELLE SUR GÉLOSE.

XXXIV. — Douze boîtes de gélose sontensemencées, le 30 novembre, avec une culture de *cocobacille d'Hérelle* poussée dans le laboratoire à la lumière diffuse et placées dans chaque serre au soleil et 2 en chambre noire.

En même temps, 12 tests de papier sontensemencés, mis en boîte de Petri et placés dans les serres.

SERRES	CULTURES VENUES	ASPECT le 8 ^e jour.	ASPECT le 15 ^e jour	ASPECT le 30 ^e jour	REPIQUAGES le 6 janvier
S. blanche.	2 2 ^e j.	Tr. belles.	Médiocres.	Desséchées.	2 négatifs.
S. blanche.	2 2 ^e j.	Tr. belles.	Minces, grises.	Médiocres.	2 négatifs.
S. verte...	2 2 ^e j.	Tr. belles.	Belles, épaisses.	Minces.	2 positifs.
S. jaune...	2 2 ^e j.	Tr. belles.	Très belles.	Minces.	2 négatifs.
S. rouge...	2 2 ^e j.	Tr. belles.	Belles.	Minces.	2 positifs.
Ch. noire...	2 2 ^e j.	Tr. belles.	Belles.	Minces.	1 pos., 1 nég.

Les tests ont été mis dans des tubes de bouillon, 1 le 21 décembre (21^e jour), rien ne pousse sauf dans rouge et noir, l'autre le 6 janvier (38^e jour), négatif pour tous.

Conclusion. — Bien venues dans toutes les serres, les cultures de *cocobacille* se sont assez vite desséchées et stérilisées dans le blanc, le bleu et le jaune. Elles ont résisté à 38 jours d'insolation dans le vert, le rouge et le noir; en test, stérilisation en 21 jours dans blanc, bleu, vert et jaune.

SARCINE SUR GÉLOSE.

XXXV. — Douze tubes de gélose inclinée sontensemencés le 21 décembre avec une culture fraîche de *sarcine rose* provenant d'une angine et placées 2 dans chaque serre et en chambre noire.

	CULTURES VENUES	ASPECT LE 2 ^e JOUR
Serre blanche.	2 le 2 ^e jour.	Très belles, rose pâle.
Serre bleue.	2 le 2 ^e jour.	Très belles, rose rouge.
Serre verte.	2 le 2 ^e jour.	Très belles, rose rouge.
Serre jaune.	2 le 2 ^e jour.	Très belles, rose rouge.
Serre rouge.	2 le 2 ^e jour.	Très belles, rose rouge.
Chambre noire.	2 le 4 ^e jour.	Très belles, rose rouge.

Conclusion. — Sarcine rosé bien venue partout, un peu en retard dans le noir, de couleur nettement plus pâle dans le blanc.

LÈVURES SUR GÉLOSE ET MOÛT DE RAISIN.

XXXVI. — Des levures importées d'Espagne et de Sicile sur cépages algériens, cultivées à l'Institut Pasteur d'Alger, récemment repiquées sur moût de raisins par M. Alliot, poussées à l'abri de la lumière, à la température du laboratoire, servent à ensemercer, le 30 novembre, des boîtes de gélose additionnée de moût et des tubes de moût et des tests en boîte de Petri que l'on met dans les serres au soleil.

12 boîtes de gélose, 12 tubes de moût et 12 tests de papier sontensemencés avec une levure d'Alicante.

12 boîtes de gélose avec une levure de grenache et 12 autres avec une levure de Sicile.

Dès le 3^e jour, dans toutes les serres, sans distinction, se développent sur gélose de belles cultures, épaisses, blanc crème, et dans les tubes de moût une intense fermentation. Après quelques jours, les cultures sur gélose prennent dans les diverses serres quelques aspects qui les différencient et qui paraissent tenir surtout à la dessiccation plus ou moins grande des cultures et des milieux.

Le 6 janvier, soit le 38^e jour, toutes les cultures sont repiquées sur moût de raisin, les tests sont mis en tubes de moût le 21^e jour, l'autre le 38^e.

Les tableaux ci-dessous résument les résultats de ces expériences.

Conclusion. — Sur les boîtes de gélose, belles cultures venues vite partout; arrêtées 2 fois sur 6 et modifiées 4 fois sur 6 dans de la lumière blanche (dessiccation des colonies et du milieu);

Levure d'Alicante sur moût de raisin en tubes.

	FERMENTATION	ASPECT		REPIQUAGE LE 38 ^e JOUR	TESTS REPIQUÉS	
		LE 8 ^e JOUR	LE 15 ^e JOUR		LE 21 ^e JOUR	LE 38 ^e JOUR
Serre blanche.	2 le 3 ^e jour.	Forte, très trouble.	Très faible; moût clair, décauté.	2 positifs le 2 ^e j.	0	0
Serre bleue.	2 le 3 ^e jour.	Forte, très trouble.	Faible, demi-clair.	2 positifs le 4 ^{er} j.	0	0
Serre verte.	2 le 3 ^e jour.	Forte, très trouble.	Encore fort; moût trouble.	2 positifs le 1 ^{er} j.	Net le 9 ^e jour.	0
Serre jaune.	2 le 3 ^e jour.	Forte, très trouble.	Faible, demi-clair.	2 positifs le 4 ^{er} j.	0	0
Serre rouge.	2 le 3 ^e jour.	Forte, très trouble.	Faible, demi clair.	2 positifs le 1 ^{er} j.	Net le 9 ^e jour.	Net le 9 ^e jour.
Ch. noire.	2 le 3 ^e jour.	Forte, très trouble.	Forte; moût trouble.	2 positifs le 1 ^{er} j.	Net le 9 ^e jour.	0

Levure de grenache sur gélose en boîtes de Petri.

	CULTURES	ASPECT		ASPECT LE 30 ^e JOUR		REPIQUAGE LE 38 ^e JOUR
		LE 8 ^e JOUR	LE 15 ^e JOUR	de la culture	du milieu	
Serre blanche.	2 le 3 ^e jour.	2 as. belles, crème.	2 médiocres, jaune.	Médiocres, brunes.	Sec, brun.	2 positifs, le 3 ^e jour.
Serre bleue.	2 le 3 ^e jour.	2 belles, bl. crème.	2 as. belles, crème.	As. belles, jaunâtres.	Ambré.	2 positifs, le 2 ^e jour.
Serre verte.	2 le 3 ^e jour.	2 belles, bl. crème.	2 as. belles, crème.	As. belles, jaunâtres.	Ambré.	2 positifs, le 2 ^e jour.
Serre jaune.	2 le 3 ^e jour.	2 belles, bl. crème.	2 as. belles, crème.	As. belles, jaunâtres.	Ambré.	1 le 3 ^e j., 1 le 6 ^e j.
Serre rouge.	2 le 3 ^e jour.	2 belles, bl. crème.	2 belles, crème.	As. belles, jaunâtres.	Ambré.	1 le 3 ^e j., 1 le 6 ^e j.
Ch. noire.	2 le 3 ^e jour.	2 belles, bl. crème.	2 belles, crème.	Belles, crème.	Très clair.	2 le 2 ^e jour.

Levure d'Alicante sur gélose en boîte.

CULTURES	DÉBUT 1 ^o	ASPECT LE 10 ^e JOUR	ASPECT LE 30 ^e JOUR		REPIQUAGE LE 38 ^e JOUR
			de la culture	du milieu	
Serre blanche.	2 belles.	1 médiocre.	1 presque disparue.	Jaune.	1 négatif.
Serre bleue.	2 belles.	4 assez belle.	4 médiocre, brune.	Très sec.	1 positif, le 7 ^e j.
Serre verte.	2 belles.	2 très belles.	2 assez belles, crème, aplaties.	Jaune tr. clair, sec.	2 positifs, le 3 ^e j.
Serre jaune.	2 belles.	2 très belles.	2 assez belles, crème, aplaties.	Jaune clair, sec.	2 positifs, le 3 ^e j.
Serre rouge.	2 belles.	2 très belles.	2 assez belles, crème, aplaties.	Jaune clair, sec.	2 positifs, le 3 ^e j.
Ch. noire . . .	2 belles.	2 très belles.	2 belles, épaisses, blanc crème.	Jaune tr. clair, peu sec.	2 positifs, le 3 ^e j.

Levure de Sicile sur gélose en boîtes de Petri.

CULTURES	ASPECT		ASPECT LE 30 ^e JOUR		REPIQUAGE LE 38 ^e JOUR
	LE 8 ^e JOUR	LE 15 ^e JOUR	de la culture	du milieu	
Serre blanche.	2 tr. belles, bl. crème.	2 belles, jaunâtres.	Assez belles, aplaties, brunes.	Jaune.	1 négatif;
Serre bleue.	2 tr. belles, bl. crème.	2 tr. belles, crème.	Belles, épaisses, jaune clair.	Jaune clair	1 positif, le 3 ^e jour.
Serre verte.	2 tr. belles, bl. crème.	2 tr. belles, crème.	Belles, épaisses, jaune clair.	Jaune clair	2 positifs, le 2 ^e jour.
Serre jaune.	2 tr. belles, bl. crème.	2 tr. belles, crème.	Très belles, crème.	Très clair.	2 pos. 1 le 2 ^e j. 4 le 6 ^e j.
Serre rouge.	2 tr. belles, bl. crème.	2 tr. belles, crème.			2 positifs, le 2 ^e jour.
Ch. noire . . .	2 tr. belles, bl. crème.	2 tr. belles, crème.			2 positifs, le 2 ^e jour.

continué dans les autres, après le 10^e jour, les cultures sont un peu aplaties, surtout dans le blanc et le bleu. Levures vivantes partout, après 38 jours, sauf 2 sur 6, en serre blanche.

En tubes de moût, fermentation intense partout; légèrement accélérée à la lumière, surtout dans blanc. Levures vivantes, après 38 jours, dans tous les tubes.

Les tests ont été stérilisés en 21 jours dans blanc, bleu et jaune et en 38 jours dans toutes les serres. Les levures paraissent particulièrement sensibles à la dessiccation.

*
* *

De ces diverses expériences, nous retiendrons les données générales suivantes : la lumière solaire n'est bactéricide qu'avec de longues ou fortes insolutions directes; elle agit surtout en surface sur les milieux secs et dans l'air où les bactéries sont le plus exposées au rayonnement et à la dessiccation. En milieu liquide les bactéries ne sont détruites qu'avec les plus fortes intensités et sous de très faibles épaisseurs. La lumière blanche totale est de beaucoup plus active que les lumières partielles quelles qu'elles soient; la lumière diffuse est insuffisante; la lumière bleue est légèrement plus bactéricide que les autres lumières de couleur, mais beaucoup moins que la lumière blanche. Après elle vient le jaune, puis le rouge et en dernier le vert qui, pour les bactéries comme pour les plantes, est le plus voisin du noir.

La partie la plus active du spectre solaire est la partie lumineuse, l'ultra-violet a une faible part dans les effets bactéricides de la lumière solaire; la filtration par un verre épais qui retient la plus grande partie de l'ultra-violet solaire n'a pas sensiblement diminué ces effets.

Il en est de même de l'infra-rouge; la filtration de la lumière solaire par une nappe d'eau n'a pas empêché son action bactéricide de s'exercer. La chaleur joue cependant un certain rôle; le refroidissement par la glace pendant l'insolation a retardé la mort des bactéries et la dessiccation des milieux.

Le pouvoir bactéricide des radiations paraît lié à la fois à leur action chimique et à leur action déshydratante (du protoplasme et du milieu nutritif) et plus particulièrement, croyons-nous, à cette dernière, qui pourtant n'est pas exclusive,

puisque elle ne peut s'exercer efficacement dans les milieux liquides ou fortement hydratés. Dans ce cas, elle serait due à une sorte de choc cinétique ou d'intoxication par excès d'énergie.

En dernière analyse, il semble que la mort des bactéries au soleil est due à une absorption trop grande d'énergie dont le premier effet le plus souvent est la déshydratation et la coagulation du protoplasme.

L'énergie absorbée étant seule agissante, les rayons de plus courte longueur d'onde, dits chimiques, sont en surface les plus actifs vraisemblablement parce que les plus absorbés par les bactéries et les milieux. En profondeur au contraire, les rayons calorifiques plus pénétrants seraient plus efficaces, mais ne peuvent produire d'effets bactéricides en raison de leur filtration progressive et de leur faible densité.

Toutes les radiations d'ailleurs, comme toutes les formes d'énergie, sont, suivant la dose absorbée, destructives ou excitantes pour le protoplasme vivant, donc pour les bactéries, et il n'y a pas là à proprement parler d'action spécifique.

Dans l'effet bactéricide il faut aussi tenir compte de la mise à nu, de l'exposition à l'air qui accompagne généralement la mise au soleil et qui contribue puissamment à la dessiccation des bactéries et des milieux.

Pratiquement, en hygiène et en thérapeutique il serait vain de compter beaucoup (surtout dans les régions tempérées) sur l'action bactéricide directe de la lumière solaire, qui ne peut s'exercer en profondeur au delà de quelques millimètres; nous avons vu que les colonies microbiennes protégées par de minces lames de graisse ou de muscle résistent aux plus fortes insulations.

En héliothérapie, l'action bactéricide directe des rayons solaires n'est importante que pour le traitement des plaies superficielles, des brûlures, des affections cutanées; elle ne peut s'exercer sur les organes profonds, poumons, squelette, etc. La cure solaire cependant agit aussi, le fait est cliniquement démontré, sur les bactéries incluses dans les tissus; tout porte à croire que c'est là un effet indirect résultant de l'action biotique de la lumière solaire sur les tissus vivants, action générale et locale, action excitante, énergétique dont l'importance thérapeutique ne saurait être exagérée, qui est produite par toutes

les radiations lumineuses et qui se traduit notamment par une suractivité circulatoire et fonctionnelle des organes, et par une augmentation de leurs moyens de défense.

Cette manière de voir, concernant à la fois le rôle restreint de l'action bactéricide et de l'ultra-violet, le rôle prépondérant de l'action biotique et des rayons lumineux et calorifiques dans la cure solaire, était en 1911, quand nous l'avons indiquée (1), tout à fait en contradiction avec l'opinion générale.

Elle n'est pas encore généralement admise, mais elle tend à l'être en certains points par nombre d'auteurs des plus avertis.

A la Société de Chirurgie (16 mai 1917), M. Leriche et M. Sencert ont expliqué la stérilisation des plaies au soleil par l'exsudation séreuse et la phagocytose que provoquent les radiations; M. Quénu et M. Chaput ont montré le rôle de la chaleur et de l'hyperémie; M. Delbet a insisté sur ce fait que l'action principale de la cure solaire est non pas une action bactéricide au sens ordinaire du mot, mais un renforcement des moyens de défense naturels; les microbes (ainsi que l'ont montré les examens bactériologiques de M. Leriche, de M. Sencert et de M. Delbet), qui avant le traitement sont presque tous extracellulaires, sont après l'insolation presque tous phagocytés.

Cette doctrine nouvelle n'a pas seulement un intérêt théorique. Elle conduit suivant nous à de multiples et importantes applications dans la pratique de l'héliothérapie; applications sur lesquelles nous avons par ailleurs maintes fois insisté (2) et qui concernent notamment l'utilisation de filtres comme en radiologie pour le dosage et la graduation de l'insolation locale et générale, l'importance thérapeutique de cette dernière, la continuité des traitements assurée, malgré la température et les saisons, par l'installation de galeries vitrées, et la suppléance éventuelle du soleil dans les serres comme en horticulture par des sources artificielles de chaleur et de lumière.

(1) MIRAMOND DE LAROUETTE, Action des bains de lumière naturelle et artificielle. Rapport au Congrès de l'A. F. A. S., *Arch. d'Élec. méd.*, 25 juillet 1911.

(2) Sur l'Erythème solaire et la pigmentation. Congrès de Radiologie de Prague, 1912. *Monde médical*, p. 1097, 1912.

Sur l'absorption du rayonnement solaire par la peau et son utilisation dans l'économie animale. *Bulletin de la Soc. de Pathologie exotique*, 13 mai 1914.

Action biotique de la lumière solaire; cure solaire des blessés en hiver. *Bulletin de l'Acad. de Médecine*, novembre 1915.